RECHERCHES SUR LA PATHOGÉNIE

DES

INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

DES JEUNES ENFANTS

RECHERCHES SUR LA PATHOGÉNIE

DES

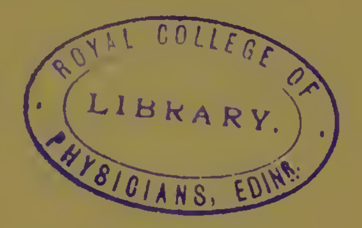
INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

DES JEUNES ENFANTS

PAR

Le Dr Pierre NOBÉCOURT

Ancien interne lauréat des hôpitaux de Paris
Chef du laboratoire de l'Hospice des Enfants-Assistés



PARIS

G. STEINHEIL, ÉDITEUR

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1899

RECHERCHES SUR LA PATHOGÉNIE

DES

INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

DES JEUNES ENFANTS

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Depuis l'avènement des études bactériologiques, la pathologie des affections du tube digestif chez les jeunes enfants s'est renouvelée. Le rôle joué par les micro-organismes dans leur production a été mis en relief ; aux notions peu précises, que l'on possédait jusqu'à ces dernières années sur leur pathogénie, s'est substituée la notion plus exacte d'infection digestive. Les facteurs considérés autrefois comme jouant le rôle principal, la surcharge alimentaire, les modifications quantitatives du lait en caséine, en beurre, en sucre, tout en gardant une importance qu'on ne saurait leur dénier sans aller à l'encontre des faits, sont passés au second plan ; ils n'interviennent plus comme causes déterminantes, mais seulement à titre de causes prédisposantes ; sous leur influence les résidus de la digestion sont plus considérables, la contractilité intestinale s'affaiblit, le tube digestif se dilate et s'allonge (1), les sécré-

(1) MARFAN. Le gros ventre des nourrissons dyspeptiques et l'augmentation de longueur de l'intestin. *Revue mensuelle des maladies de l'enfance*, février 1895.

tions se modifient, des fermentations anormales s'établissent, le contenu de l'intestin devient un milieu de culture éminemment favorable à la pullulation des bactéries saprophytes, et celles-ci pourront devenir pathogènes, déterminant des *diarrhées endogènes* (Escherich) (1), ou, dans une acception plus générale, des *infections d'origine endogène* (Thiercelin) (2). Dans le même sens agiront les maladies générales, telles que la rougeole, la grippe, ou d'autres comme la tuberculose, la syphilis qui déterminent soit des lésions, soit des troubles fonctionnels des organes, du foie, du pancréas, etc. D'autre part, chez les nourrissons soumis à l'allaitement artificiel, l'introduction dans les voies digestives d'un lait chargé de microbes virulents, pourra déterminer des *diarrhées ectogènes* (Escherich) ou *infections d'origine ectogène* (Thiercelin).

De la connaissance de tous ces faits est née une thérapeutique rationnelle, dont les principes essentiels — suppression des aliments, diète hydrique, évacuation de l'intestin par les purgatifs et les lavages — ont pour but de réaliser le plus possible l'asepsie digestive; de la connaissance plus particulière du deuxième groupe d'infections, a résulté l'introduction dans la pratique du lait stérilisé. La notion nouvelle d'infections gastro-intestinales a donc été féconde.

Cependant, malgré les progrès réalisés, bien des points restent encore obscurs dans la compréhension de ces processus morbides. Si on veut sortir de la notion générale, pénétrer dans l'intimité des phénomènes, préciser les faits, on s'aperçoit vite combien d'obscurité règne encore à ce sujet. Nombreuses sont les questions qui restent à résoudre ; les travaux qui se succèdent tous les jours en sont la preuve.

La connaissance même que nous avons des agents morbides de

(1) Escherich. Beitrag zur Pathogenese der bacteriellen Magen-und Darmer-Krankungen in Säuglingsalter. Congrès d'Heidelberg, 1889. *Wien. med. Presse*, 1889.

(2) E. Thiercelin. *De l'infection gastro-intestinale chez le nourrisson.* Thèse de Paris, 1894.

ces infections est bien imparfaite. Les recherches bactériologiques nous ont appris qu'elles ne comportent pas de germes spéciaux, qu'elles sont le fait des bactéries banales du tube digestif. Mais, d'une part, on n'a pas suffisamment précisé les rapports à établir entre les constatations de laboratoire et les états infectieux qu'étudie la clinique ; d'autre part, on ne s'est pas attaché d'une façon systématique à étudier le rôle que joue, dans la pathogénie de ces infections, la coexistence si fréquente dans l'intestin d'espèces bactériennes en plus ou moins grand nombre. Rechercher les caractères qui permettent de fournir la preuve de l'action pathogène de microbes normalement saprophytes, étudier l'influence des différentes associations, qui peuvent se créer dans l'intestin, sont cependant les bases nécessaires, sans lesquelles on s'expose à n'acquérir aucune notion précise.

Parmi les causes qui rendent si difficile la solution de ces problèmes bactériologiques se place au premier rang la variété de la flore microbienne de l'intestin, aussi bien à l'état normal qu'à l'état pathologique. Comme l'a montré le premier Escherich (1), et, après lui, de nombreux observateurs, dès les premières heures qui suivent la naissance, les microbes apparaissent dans l'intestin, y pénétrant à la fois par la bouche et par l'anus. Dans le méconium, avant toute alimentation, dans un temps qui varie entre quatre et vingt heures, on trouve déjà une flore variée ; W. Schild (2) y a isolé sept espèces : le microcoque porcelainé, le bacillus subtilis, rarement le colibacille, des proteus, toutes espèces déjà signalées par Escherich, et, en outre, trois variétés de bacilles fluorescents liquéfiant ou non la gélatine. A mesure que l'enfant grandit, cette flore microbienne s'enrichit. A côté des bactéries obligatoires, le bacterium lactis aero-

(1) ESCHERICH. Ueber dar Vorkommen von Vibrionen im Darmcanal und den Stuhlgängen der Säuglinge. *Münchener med. Wochenschrift*, 1886, n° 46.

(2) W. SCHILD. *Das Auftreten von Bakterien im Darminhalte Neugeborener vor der ersten Nahrungsaufnahme. Zeitsch. f. Hyg. und Infektionskrank.*, 1895, XIX, p. 113.

genes et le bacterium coli commune, peut exister toute une série de bactéries facultatives (Escherich). Szegö (1) décrit dans l'intestin normal du nourrisson dix espèces: deux colibacilles, le bacillus fetidus liquefaciens, le bacillus subtilis, la sarcina lutea, le staphylococcus liquefaciens albus, le streptococcus pyogenes, le micrococcus liquefaciens flavus, le micrococcus ceruleus albus, une torula. Évidemment, tous ces germes ne coexistent pas habituellement dans le même intestin. Souvent, dans les selles normales, on n'en trouve que quelques-uns, et même les colibacilles peuvent exister en culture à peu près pure (Escherich). Mais le fait, qu'on peut les rencontrer en dehors de tout état morbide, restreint singulièrement la valeur de leur constatation au cours des infections gastro-intestinales.

Dans ces infections, ce sont les mêmes microbes que l'on retrouve : le plus habituellement, des colibacilles, des streptocoques ; à titre plus ou moins exceptionnel, le bacille chromogène vert, qui n'est qu'une variété spéciale de colibacille, le bacillus mesentericus, des proteus, le bacille pyocyanique, des tyrothrix, etc. Dans certains cas, une espèce prédomine. Dans la majeure partie des cas, au contraire, la flore microbienne est variée. Prédominance d'une espèce, espèces plus ou moins nombreuses, peuvent donc se présenter à l'étude, qu'il s'agisse d'un intestin normal ou pathologique. On conçoit donc la difficulté qu'il y a d'établir la part qui revient à chacune de ces espèces ou à leur association dans la pathogénie des troubles morbides. Pour élucider les faits, il faut nécessairement scinder leur étude, ne les aborder que successivement.

A la suite de la découverte d'Escherich, le bacterium coli commune, d'abord considéré comme un simple saprophyte inoffensif, peut-être même utile dans une certaine mesure, a vu son rôle en pathologie croître de jour en jour. Actuellement, on est même

(1) Szegö. Die Darmmikroben der Säuglinge und Kinder. *Archiv f. Kinderheilkunde*, 1897, XXII, 1 et 2.

en droit de se demander, si on n'a pas étendu ses attributions au delà des limites qu'il était sage de leur imposer.

Hôte normal de l'intestin, on le rencontre toujours (à de rares exceptions près) dans les examens bactériologiques des matières fécales. Microbe envahissant par excellence, on le trouve presque constamment dans les organes à l'autopsie, si précoce qu'elle soit, car dans bien des cas il franchit la barrière intestinale dans les dernières heures de la vie, qu'il ait joué un rôle ou non dans la production de la maladie cause de la mort. Aussi est-il difficile de préciser son action pathogène, et la nécessité d'un critérium s'est-elle imposée dès les premières recherches. Mais successivement tous les caractères proposés ont été discutés et ont perdu de leur valeur. Rien au point de vue de la morphologie, de la mobilité, des cultures sur les différents milieux, ne différencie les colibacilles pathogènes des colibacilles saprophytes. Leur abondance dans le tube digestif, leur virulence sont sujettes à tant de variations en dehors des états infectieux, que bien des réserves doivent être faites à ce sujet. Aussi s'explique-t-on facilement les divergences des auteurs sur le rôle des colibacilles dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants. Tandis qu'en France, pendant longtemps, on admettait ce rôle, et on l'admet encore assez volontiers, en Allemagne, au contraire, on fait des réserves et on tend à le restreindre. La question reste donc pendante et sa solution demande encore des recherches.

Les acquisitions récentes de la bactériologie ont permis d'en entreprendre sur de nouvelles bases. Les travaux de M. Widal sur le séro-diagnostic de la fièvre thyphoïde, en nous montrant qu'au cours de cette infection le sérum du malade acquiert le pouvoir d'agglutiner les bacilles d'Eberth, que cette réaction spécifique en constitue en quelque sorte la signature, ont trouvé leur application dans l'étude des infections colibacillaires, de même que dans l'étude du choléra, de la pneumococcie, etc. Sans doute les premières recherches faites dans des infections colibacillaires diverses, en faisant voir que les colibacilles sont souvent agglu-

tinés par les sérums normaux à un taux qui n'est pas dépassé dans les états pathologiques, n'ont pas répondu à l'espérance ; mais l'étude faite plus tard, par M. Widal et nous (1), de l'agglutination par le sérum du malade d'un paracolibacille isolé du pus d'une thyroïdite suppurée, a montré que cette agglutination peut apparaître dans ces infections, et que, à la condition de suivre les règles de la mensuration du pouvoir agglutinatif, de sa constatation peuvent résulter des déductions importantes pour préciser la nature de l'agent infectant dans les maladies dont l'origine colibacillaire est soupçonnée.

Parmi ces maladies se placent au premier rang les infections gastro-intestinales des jeunes enfants. Au cours des formes aiguës de ces infections, M. Lesage (2) a constaté la fréquence de l'agglutination des colibacilles isolés des selles par les sérums des malades ; mais il manquait à ses recherches l'appoint des mensurations du pouvoir agglutinatif. Reprenant cette étude, en nous conformant à la méthode des mensurations, nous (3) avons constaté l'inconstance de la séro-réaction colibacillaire dans les infections gastro-intestinales, fait confirmé d'ailleurs par les recherches parallèles d'Escherich (4). L'agglutination ne constitue donc pas un critérium qui permettre de reconnaître la nature colibacillaire de ces infections.

Dans la première partie de ce travail, nous exposerons et discuterons la valeur des différents critériums proposés pour établir le rôle pathogène des colibacilles dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants.

(1) F. Widal et P. Nobécourt. Séroréaction dans une affection à paracolibacille. *Semaine médicale*, 4 août 1897, p. 285-287.

(2) Lesage. Contribution à l'étude des entérites infantiles. Séro-diagnostic. Des races de B. coli. *Compt. rendus de la Soc. de biol.*, 16 oct. 1897.

(3) P. Nobécourt. De la non-spécificité des colibacilles des infections gastro-intestinales des jeunes enfants. *Compt. rendus de la Soc. de biol.*, 26 nov. 1898.

(4) Th. Escherich. Die Bedeutung der Bakterien in der Aetiologie der Magendarmerkrankungen der Säuglinge. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1898, nos 40 et 41.

L'agglutination peut encore trouver son application dans l'étude d'une question spéciale aux colibacilles des infections gastro-intestinales aiguës des jeunes enfants. Ces infections aiguës, sporadiques une partie de l'année, revêtent souvent, pendant la saison chaude, le caractère épidémique. Aussi est-on en droit de se demander si elles ne sont pas le fait d'un agent particulier, qui en déterminerait l'apparition, comme le vibrion de Koch détermine le choléra ou le bacille d'Eberth la fièvre typhoïde. Cet agent n'est pas un microbe d'une espèce particulière, puisqu'on a constaté, soit des colibacilles [Lesage (1), Rossi-Doria (2), Greene-Cumston (3), etc.], soit des streptocoques (Escherich), soit du proteus (W. Booker) (4) ; mais il peut appartenir à une race spéciale d'une de ces espèces banales.

Cette question des races microbiennes, dont l'importance croît de jour en jour, qu'il s'agisse de bactéries spécifiques, comme le vibrion cholérique, le bacille diphtérique, le bacille tuberculeux, ou de bactéries saprophytes, capables de devenir pathogènes, comme le colibacille, le streptocoque, le pneumonocoque, etc., attire forcément l'attention dans les infections dont nous nous occupons. Pour nous en tenir aux colibacilles, aucun des caractères décrits jusqu'ici n'avait permis d'isoler parmi eux une race spéciale à ces infections.

L'étude de l'agglutination nous a offert une méthode nouvelle de recherches; la séro-réaction a fourni en effet des résultats si probants, en faveur de l'unité des bacilles d'Eberth (Widal), donné des caractères différentiels si nets entre les vibrions cholériques et les

(1) LESAGE. Entérites à bacterium coli. *Bull. et mém. de la Soc. méd. des hôp.*, 22 janvier 1892.

(2) ROSSI-DORIA. Ueber einige durch das B. coli commune an Kirdern herorgerufene Diarrhœn mit epidemischen Charakter. *Centralbl. f. Bakter.*, 1892, p. 158.

(3) GREENE-CUMSTON. *Contrib. à l'ét. de la virulence du B. coli dans les diarrhées des enfants.* Thèse de Genève, 1894.

(4) W. BOOKER. A study of some Bacteria of the in the fæces of infants affected with summer Dirrhæa. *Transactions of the America Pediat. Soc.*, 1889. Même sujet *Jahrbuch f. Kinderheil.*, 1891, p. 122, et *Centralbl. f. Bakter.*, 1891, X, p. 284.

autres vibrions aquatiques ou intestinaux, qu'on peut penser à bon droit obtenir des résultats comparables pour les colibacilles. Les colibacilles de provenances diverses, même très voisins par leurs autres caractères, sont différenciés par la séro-réaction, comme nous l'avons montré avec M. Widal (1). Par contre, des colibacilles de même source pourront peut-être être identifiés.

Les recherches, dont nous avons déjà parlé, entreprises dans le but de résoudre cette question, ont conduit M. Lesage à admettre l'existence d'une race de colibacilles particulière dans ces infections gastro-intestinales. A ces recherches, comme à celles que nous avons signalées plus haut, manquaient les mensurations du pouvoir agglutinatif. Nous conformant à leur pratique, nous avons étudié expérimentalement cette question, et cette étude nous a conduit à cette conclusion qu'il n'existait pas de race de colibacilles spéciale à ces infections. Ces recherches constitueront la deuxième partie de ce travail.

A côté des colibacilles, bactéries obligatoires des selles, suivant l'expression d'Escherich, on constate, dans la plupart des cas, d'autres espèces bactériennes en plus ou moins grand nombre. Si l'une ou l'autre de ces espèces prédomine, on peut, *a priori*, lui attribuer un rôle prépondérant, surtout si cette espèce est rarement observée à l'état normal ; mais si la quantité du germe ne renseigne pas par elle-même, il n'est pas juste de tout attribuer à une d'entre elles, à l'exclusion des autres.

Ce que nous savons de l'importance des associations microbiennes en pathologie permet de penser qu'elles doivent jouer un rôle dans les infections gastro-intestinales. Ce rôle peut d'ailleurs être envisagé de diverses façons. Peut-être se passe-t-il dans l'intestin des phénomènes de symbiose microbienne analogues à ceux démontrés pour le tétanos (Vaillard, Rouget et Vincent) pour le vibrion septique (Besson) pour le vibrion cholérique (Metchnikoff).

(1) F. Widal et P. Nobécourt. *Loc. cit.*

phénomènes dans lesquels l'association de microbes inoffensifs permet à l'agent pathogène de déterminer la production de la maladie, alors que ce dernier ne peut rien à lui seul. Peut-être s'agit-il d'infections mixtes, où plusieurs germes combinent leur action pour créer un état morbide, ou d'infections secondaires, dans lesquelles, à un germe primitif, viennent s'en ajouter d'autres qui, par leur présence, compliquent la maladie première. Autant de questions qui se posent, et dont la solution serait des plus intéressantes.

Le rôle possible des associations microbiennes s'est bien présenté à l'attention des observateurs ; nous-même en avons publié un exemple (1) ; mais, à notre connaissance, aucune recherche suivie n'a été pratiquée jusqu'ici pour en établir la réalité. Constater, par l'examen direct des préparations faites avec les matières fécales ou par les cultures, l'existence de plusieurs espèces microbiennes, n'est pas établir en effet qu'il y a association morbide. — Il importe de distinguer la simple *coexistence* de l'*association* des microbes ; dans un cas, les espèces vivent côte à côte, sans s'influencer réciproquement ou tout au moins sans que, de cette influence réciproque, résulte un dommage pour l'individu qui les héberge ; dans l'autre cas, elles unissent leurs efforts dans la lutte contre l'organisme. Dans l'intestin normal, malgré la richesse de la flore, il semble n'y avoir que simple coexistence ; dans les infections gastro-intestinales, il s'agit de démontrer s'il y a réellement association.

Pour faire une telle démonstration, il faut d'abord établir comment réagissent les uns sur les autres les germes que l'on trouve dans l'intestin. On ne saurait faire cette étude pour tous en même temps; parmi eux, il faut faire un choix. Les bactéries, que l'on rencontre le plus fréquemment, sont les colibacilles et les streptocoques, comme l'ont constaté plusieurs auteurs, comme nous avons pu le voir nous-même ; aussi convient-il tout d'abord d'étudier l'asso-

(1) P. Nobécourt. Sur un cas d'infection intestinale à bacille pyocyanique chez le nourrisson. *Bulletin médical*, 21 août 1898, p. 809.

ciation de ces microbes. Nous avons montré (1) que le mélange de colibacilles et de streptocoques virulents ou non virulents isolés des selles était pathogène pour le cobaye à des doses où ces microbes sont inactifs isolément, et nous avons précisé le mode d'action de cette association. Ce point établi, nous avons essayé d'établir son rôle dans la pathogénie des infections gastro-intestinales des jeunes enfants.

Ce sont ces recherches sur l'association strepto-colibacillaire qui feront l'objet de la troisième partie de ce travail. Nous les ferons suivre de quelques expériences sur l'association du colibacille avec le bacillus mesentericus et le proteus, associations qui peuvent également se présenter en clinique.

(1) P. Nobécourt. Association strepto-colibacillaire chez le cobaye. *Compt. rendus de la Soc. de biol.*, 28 janvier 1899.

CHAPITRE PREMIER

Du rôle des colibacilles dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants.

Parmi les microbes de l'intestin, auxquels les observateurs ont attribué un rôle pathogène important dans les affections gastro-intestinales des jeunes enfants, se trouvent au premier rang les colibacilles. Mais à mesure que l'on a pénétré plus profondément dans l'étude de ces infections, on s'est aperçu que l'intervention de ces colibacilles était peut-être moins fréquente, qu'on ne l'avait pensé tout d'abord.

Comme on les rencontre dans tous les examens bactériologiques de l'intestin, leur seule présence est loin d'être une constatation suffisante. Aussi, bien que les données de pathologie générale nous laissent facilement concevoir la possibilité pour cet agent saprophyte d'acquérir à un moment donné des propriétés pathogènes, la nécessité s'est-elle imposée d'un critérium qui permît de démontrer sôn action dans tel cas donné.

Mais trouver ce critérium n'est pas chose facile. Les colibacilles de l'intestin normal ou pathologique présentent des caractères de morphologie et de culture très variables. Les seules propriétés, qui leur soient communes, sont d'être décolorés par la méthode de Gram et de ne pas liquéfier la gélatine. Sous tous les autres rapports, ils varient d'un échantillon à l'autre. Ils sont mobiles ou immobiles, font fermenter ou non la lactose, donnent ou non la réaction de l'indol. Ces divers caractères se groupent

d'une façon variable; aussi à côté du colibacille type, qui les présente tous au complet, peut-on rencontrer chacun des cinq types paracolibacillaires, admis par Gilbert (1). Aucun de ces types cependant n'est spécial à un état infectieux, pour lequel sa présence serait caractéristique. Il n'y a donc aucune déduction à tirer de ces constatations pour affirmer l'existence d'une action pathogène. Aucun auteur n'y a d'ailleurs songé, et personne n'a confirmé le fait avancé par Greene-Cumston (2), « que la mobilité exaltée du colibacille indique une virulence plus grande ».

Plus importantes sont peut-être les déductions que l'on a tirées de l'abondance des colibacilles dans les matières fécales et de leur virulence.

Habituellement, si on examine les matières fécales d'un enfant normal après coloration par le violet de gentiane, on voit des formes bacillaires variables, plus ou moins allongées et plus ou moins épaisses, la plupart décolorées par la méthode de Gram. Après le Gram, quelques bacilles restent souvent colorés et on remarque plus facilement la présence de diplocoques ou de streptocoques, qui étaient moins faciles à reconnaître tout d'abord. Les constatations sont encore plus nettes, si on emploie la méthode de coloration proposée par Escherich (3). Les cultures sur plaques ou sur tubes de gélose en dilutions successives, de façon à obtenir sur le deuxième et le troisième tube des colonies isolées, montrent également une diversité plus ou moins grande de microbes : colibacilles dont il existe souvent deux variétés, qu'on distingue à l'examen rapide par le plus ou moins d'opacité des colonies, streptocoques et autres espèces moins habituelles.

(1) Gilbert. De la colibacillose. *Semaine médicale*, 1895, p. 1.

(2) Greene-Cumston. *Loc. cit.*, p. 26.

(3) Th. Escherich. Ueber Streptokokkenenteritis in Säuglingsalter. *Jahrbuch für Kinderheilkunde*, XLIX, 2-3, 28 mars 1899, p. 137. — Voici la technique proposée par Escherich :

On prépare une solution aqueuse de violet de gentiane à 5 p. 200, qu'on fait bouillir une demi-heure et qu'on filtre (1), et un mélange de 11 parties d'alcool absolu et de 3 parties d'aniline (2). Avec ces solutions-mères on fait la solution

On conçoit donc que la constatation sur lamelles uniquement de bacilles décolorés par le Gram et sur gélose d'une culture pure de colibacilles puisse être invoquée en faveur d'une action pathogène de leur part. C'est surtout dans les infections estivales aiguës que cette constatation a été faite, et Lesage en particulier a insisté sur son importance. Sans doute elle est précieuse à faire, mais sa valeur est loin d'être absolue. D'une part, ce n'est pas dans les états infectieux seuls, qu'elle peut être faite : chez des enfants normaux, particulièrement ceux nourris au sein, ces conditions se réalisent quelquefois, comme Escherich l'avait vu dès ses premières recherches. D'autre part, on peut voir, sous des influences diverses, les espèces microbiennes se raréfier dans le tube digestif et le colibacille y prédominer à l'état de culture pure. Sanarelli (1) a constaté le fait chez le cobaye à la suite de l'inoculation sous-cutanée de bacille typhique ou de l'injection de toxine typhique ; de même Ramond (2) après des injections de toxine colibacillaire ou streptococcique. Nous-même, chez deux cobayes pleines soumises par M. Charrin à la diète et traitées par des injections sous-cutanées de solutions salines, avons constaté que le colibacille était dans l'intestin à l'état de culture pure, tandis que chez deux autres cobayes on trouvait du colibacille, du streptocoque, du proteus. D'ailleurs si on se fondait sur ce critérium, le rôle du colibacille serait singulièrement restreint ; dans la majorité des

à employer en mélangeant (1) et (2) dans les proportions de 8 1/2 et 1 1/2 ; cette solution doit être renouvelée toutes les deux ou trois semaines.

On colore au violet pendant quelques secondes. On fait agir une solution iodo-iodurée (iode = 1, K I = 2, eau 60), on décolore avec un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'aniline ; on lave au xylol, on laisse sécher et on colore avec un mélange à parties égales d'une solution alcoolique concentrée de fuchsine et d'alcool absolu.

Sur les préparations, les colibacilles sont colorés en rouge, les streptocoques en violet. Quelquefois les colibacilles résistent mieux à la décoloration et restent violets ; cela n'implique pas qu'il s'agisse d'une variété spéciale, cependant, d'après Escherich, cette particularité mérite d'être étudiée.

(1) SANARELLI. Etude sur la fièvre typhoïde expérimentale. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 193 et 353.

(2) RAMOND. *Etude sur la fièvre typhoïde expérimentale*. Thèse de Paris, 1898.

cas d'infections gastro-intestinales, le colibacille coexiste avec d'autres bactéries. Ce fait est la règle dans les affections chroniques ; il est fréquent dans les infections aiguës, à nous en tenir aux statistiques de Greene-Cumston (1) qui, sur 13 cas, n'a trouvé que 3 fois le colibacille en culture pure ; de Lesage (2) qui n'a constaté le même fait que 297 fois sur 770 examens. Aussi sans nier toute valeur à ce criterium, il ne faudrait pas lui attribuer une trop grande importance.

Étudions maintenant la valeur du caractère tiré de la virulence pour les animaux. Habituellement les colibacilles de l'intestin des nourrissons ne sont pas virulents, pour Lesage et Macaigne (3), à la dose de 1 centim. cube de culture en bouillon de 48 heures, inoculée sous la peau ou dans la veine de l'oreille d'un lapin ou sous la peau du cobaye. Dans les infections gastro-intestinales au contraire, ils deviennent virulents, et le meilleur criterium de l'infection, d'après Lesage (4), est l'existence dans les selles d'un colibacille qui, à la dose de 2/3 centim. cube de culture en bouillon de 24 heures à 37° inoculée dans le péritoine, détermine la mort rapide d'un cobaye d'un poids inférieur à 200 grammes.

Mais cependant il est des cas, où l'observation clinique ne décèle aucun état infectieux digestif, et dans lesquels on trouve des colibacilles virulents dans les selles ; le fait n'est pas rare. Macaigne l'a constaté 3 fois sur 13. Nous-même, sur 8 observations de nourrissons normaux, ayant des selles jaunes, fermes, recueillies dans le but d'élucider cette question, nous avons isolé quatre fois des colibacilles sans action sur des cobayes de 300 grammes, à la dose de 1 cent. cube

(1) Greene-Cumston. *Loc. cit.*, p. 23.

(2) Lesage. Contribution à l'étude de la gastro-entérite aiguë du nourrisson. *Bull. et mém. de la Soc. méd. des hôp.*, 18 novembre 1898.

(3) Macaigne. *Le Bacterium coli commune. Son rôle dans la pathologie.* Thèse de Paris, 1892.

(4) Lesage. Infections et intoxications digestives. *Traité des maladies de l'enfance*, de Grancher, Comby, Marfan, II, 1897, p. 566.

de culture en bouillon de 24 heures, inoculée sous la peau, et quatre fois des colibacilles virulents à cette dose. Voici le résumé de ces observations dans l'ordre chronologique.

Observation I. — Alexandre Tex..., né le 10 janvier 1899, entre dans le service de médecine de l'hospice des Enfants Assistés le 24 janvier. Poids, 3,700 gr. Quelques bulles de pemphigus. Pas de syphilis. Allaitement au sein.

Deux selles jaunes par jour. Le 24 janvier, on isole un colibacille et quelques streptocoques. Le colibacille tue rapidement à la dose de 1 centim. cube un cobaye de 290 gr.; à la dose de un demi-centim. cube, il tue en deux jours un cobaye de 310 gr.; à un quart de centim. cube, il est sans action sur un cobaye de 300 gr.

L'enfant sort le 31 janvier, pesant 3,900 gr.

Observation II. — Lucienne Sza..., née le 13 novembre 1898, élevée au sein à l'annexe de Châtillon, entre en médecine le 1er février 1899. Poids, 3,400 gr. Allaitement au sein.

Deux ou trois selles jaunes par jour. Le 3 février, on isole des selles un colibacille, quelques streptocoques et un proteus. Le colibacille ne tue pas à la dose de 1 centim. cube un cobaye de 300 gr.

Observation. III. — X..., 4 mois, enfant de la ville, bien portant, toujours nourri exclusivement au sein.

Selles jaunes, normales, dans lesquelles on isole, le 9 février 1899, un colibacille, dont 1 centim. cube est sans action sur un cobaye de 300 gr., et de rares streptocoques.

Observation IV. — Jeanne Beauf..., née le 16 février 1899, entre en médecine le 28 février. Poids 3,100 gr., muguet peu accentué; un peu d'érythème des fesses.

Selles jaunes, normales. A deux reprises, le 1er et le 11 mars, alors que le muguet et l'érythème avaient disparu, on obtient une culture pure de colibacilles, dont 1 centim. cube tue rapidement un cobaye de 320 gr., et un demi centim. cube tue en deux jours un cobaye de 300 gr.

A sa sortie, le 13 mars, l'enfant pèse 3,400 gr. ayant augmenté régulièrement de poids.

Observation V. — Louise Four..., née le 19 février 1899, entre en médecine le 18 mars. Poids, 2,150 gr. Allaitement au sein.

Deux ou trois selles jaunes normales par jour. Le 18 mars on y trouve un colibacille, dont 1 centim. cube tue un cobaye de 300 gr. en deux jours et un streptocoque rare.

L'enfant sort le 23 mars, pesant 2,300 gr.

Observation VI. — Blanche Lar..., née le 11 mars 1899, entre à la crèche le 21 mars. Poids, 2,750 gr.

Selles jaunes normales, contenant un colibacille dont 1 centim. cube tue un cobaye de 320 gr. et d'abondants streptocoques.

Observation VII. — Joseph Gef..., né le 22 mars 1899, entre à la crèche le 27 mars. Poids, 3,700 gr.

Selles jaunes avec quelques grumeaux blanchâtres. Colibacille non virulent; streptocoques assez abondants; proteus.

Observation VIII. — Rose Rich..., née le 16 mars 1899, entre à la crèche le 27 mars. Poids, 3,600 gr.

Selles jaunes normales. Colibacille non virulent; streptocoques rares.

Nous ferons remarquer que ces observations ont été recueillies en hiver ; on ne saurait donc invoquer l'influence d'une température élevée, pour expliquer dans ces cas la virulence des colibacilles isolés des selles. La chaleur, dont le rôle a été constaté par Macaigne, n'est donc pas un facteur, qui puisse toujours être mis en cause.

D'ailleurs, on sait combien d'autres facteurs peuvent modifier la virulence des colibacilles intestinaux ; l'alimentation, les modifications des sécrétions gastriques, les maladies générales, etc., ont une influence plus ou moins marquée. Valagussa (1), soumettant des chats à une alimentation variable, a constaté que, si le régime lacté et, à un degré moindre, le régime carné diminuent la virulence des colibacilles des selles, le régime végétal l'augmente. Sanarelli, Ramond, dans leurs expériences citées plus haut, en même temps que la pullulation des colibacilles, ont noté leur augmentation de virulence. Il en est de même dans la fièvre typhoïde. La virulence n'est donc pas un criterium absolu.

(1) Valagussa. Experimentelle Untersuchungen uber die Virulenz des B. coli commune. *Cenbralblatt f. Bakteriologie*, 24 novembre 1898, XXIV, p. 750.

Quant à la coexistence des deux caractères précédents (colibacilles en culture pure et virulents) elle n'a pas non plus de valeur absolue, ainsi qu'il résulte des considérations que nous venons de développer. Dans l'observation IV, chez un enfant entré pour un muguet bénin de la bouche, nous avons à deux reprises, à l'entrée, et quelques jours après, alors que le muguet était guéri et que l'enfant allaité au sein augmentait régulièrement de poids, trouvé dans les selles une culture pure de colibacilles, qui tuaient le cobaye à la dose de 1/2 centim. cube.

L'étude du pouvoir toxigène des colibacilles serait peut-être un appoint important pour établir leur rôle pathogène. Mais les recherches à ce sujet sont encore peu avancées et il serait prématuré d'en tirer des conclusions.

Reste la présence du colibacille dans le sang et les organes à l'autopsie. Mais toutes les recherches concordent pour enlever toute valeur à cette constatation. On sait en effet que les colibacilles diffusent dans les organes déjà dans les dernières heures de la vie. Il s'agit donc d'un envahissement agonique ou *post-mortem*. D'ailleurs les infections gastro-intestinales déterminent des phénomènes de toxhémie et non des phénomènes d'infection généralisée, au moins dans la plupart des cas.

D'après cet exposé, on voit donc combien il est difficile d'établir d'une façon précise le rôle pathogène des colibacilles. Dans beaucoup de cas on présume leur rôle plutôt qu'on n'en établit la réalité. Parmi les constatations que nous venons de rappeler, il nous faut mettre en relief celle de colibacilles en culture pure et virulents (Lesage). Alors que, d'une part, il n'existe aucun autre agent dans l'intestin et que, d'autre part, on est en présence d'un état manifestement infectieux du tube digestif, on est dans le droit d'établir entre ces deux faits une relation de cause à effet, quoique le résultat de l'examen bactériologique ne soit pas pathognomonique par lui-même. Ce n'est pas à dire que, dans bien d'autres cas, il n'y ait à tenir compte de la présence des colibacilles ; mais alors rien ne le démontre d'une façon absolue, et comme nous le verrons, les

phénomènes sont peut-être plus complexes; il est possible que les associations microbiennes interviennent.

A ces procédés d'examen usités seuls jusqu'à ces dernières années, pour établir le rôle pathogène d'un microbe, s'est ajoutée l'étude de l'agglutination de ce microbe par le sérum du malade soumis à son action. Au début des recherches instituées sur cette réaction biologique, alors qu'on en faisait, avec Gruber, une réaction d'immunité apparaissant seulement chez les animaux fortement immunisés ou chez les individus convalescents ou guéris, on ne pouvait penser à en faire la marque de l'existence d'un processus infectieux. Mais M. Widal montra que la séro-réaction agglutinative apparaissait dès la période d'infection, en pleine évolution de la maladie ; il fit voir que sa constatation au cours de la fièvre typhoïde constituait en quelque sorte la signature de la maladie et permettait d'affirmer son existence. Des résultats analogues obtenus par Achard et Bensaude pour le choléra, par F. Bezançon et Griffon pour les pneumococcies, prouvèrent que la méthode était susceptible d'application générale, malgré les insuccès éprouvés dans la recherche du séro-diagnostic de la diphtérie (J. Nicolas) et du tétanos (Bensaude, J. Courmont, etc.). Aussi, comme des caractères nombreux font du bacille typhique et des colibacilles des microbes si voisins, qu'on a même voulu les identifier, on était autorisé à essayer l'application aux infections coli-bacillaires des mêmes procédés de recherches.

Les premiers travaux sur l'agglutination des colibacilles par les sérums des malades, au cours des infections colibacillaires, ne furent pas favorables à l'hypothèse. Au Congrès de Nancy, en 1896, Widal et Sicard disaient que le sérum de 20 malades atteints d'infections colibacillaires de formes diverses avait fourni, dans 3 cas seulement, avec une culture de colibacilles, une agglutination plus marquée que celle produite par le sérum d'hommes bien portants. Plus tard, Achard et Bensaude (1) obtenaient également des résul-

(1) Bensaude. *Le phénomène de l'agglutination des microbes.* Thèse de Paris 1897.

tats négatifs avec le sérum de malades atteints de pyélonéphrite suppurée et de pleurésie tuberculeuse à colibacilles. Par contre, Bosc et Vedel (1), dans une affection d'allure typhoïde, W. Johnston et Taggart (2) dans l'embarras gastrique fébrile, constataient assez souvent une agglutination nette des colibacilles et considéraient ces infections comme d'origine colibacillaire.

Mais toutes ces observations premières étaient à reprendre, car, à cette époque, la mensuration du pouvoir agglutinatif des sérums n'était pas encore entrée dans la pratique. Or, comme MM. Widal et P. Courmont l'ont montré, tous les sérums humains agglutinent les colibacilles dans des proportions variables pour chaque échantillon de sérum et de microbe, et il est difficile de dire où commence l'agglutination pathologique. Pour obtenir des résultats probants, il ne faut pas se borner à constater l'existence de l'agglutination, il faut rechercher à quel taux elle existe. Appliquant la méthode des mensurations, nous avons, avec M. Widal (3), dans un cas de thyroïdite suppurée opérée par M. Chaput, constaté que le paracolibacille isolé du pus était agglutiné par le sérum du malade, dans la proportion de 1 p. 1000, puis nous avons assisté progressivement à la diminution de ce pouvoir agglutinatif à 1 p. 400, 1 p. 150, 1 p. 120, vingt-neuf jours après l'opération. Dans ce cas, l'agglutination était donc bien en rapport avec le processus infectieux et en était la signature. Les infections colibacillaires pouvaient donc donner lieu à une agglutination caractéristique.

La première application de ces données à l'étude des infections gastro-intestinales des jeunes enfants a été faite par M. Lesage (4). Nous retenons seulement ici les conclusions intéressant le point

(1) VEDEL. *Congrès français de médecine interne.* Nancy, 6 août 1896.

(2) W. JOHNSTON et TAGGART. On the difference between serum and blood solutions, the condition of the test culture and the significance of bacterium coli infection in relation to typhoïd diagnosis. *Montreal med. Journ.*, mars 1897.

(3) F. WIDAL et P. NOBÉCOURT. *Loc. cit.*

(4) LESAGE. *Loc. cit.*, 16 oct. 1897.

spécial qui nous occupe. « Le B. coli provenant d'un enfant en « pleine période d'acuité de la maladie est agglutiné par le sérum du « même enfant (50 cas : 40 positifs, 10 négatifs). La réaction, pour « ne pas être constante, est cependant très fréquente. Sur 10 faits « négatifs, 8 fois le B. coli était cependant virulent, 2 fois la virulence « n'existait pas... Il se peut que dans les cas négatifs la réaction « n'était pas encore apparue, car si nous examinons en détail les 40 « faits positifs, nous voyons que 13 fois l'agglutination manquait à « un premier examen et apparaissait les jours suivants. La durée « de la réaction est courte malgré la persistance de l'état digestif, « car si la maladie passe à l'état chronique, l'agglutination dispa- « raît après quelques jours. De même, si on examine un enfant « atteint d'entérite chronique, d'athrepsie, la réaction manque « (24 fois sur 25). Cependant, parfois elle pourra apparaître, s'il y « a une poussée intestinale, mais elle sera de très courte durée et « très faible (6 fois sur 25 cas).... Le B. coli normal à cet âge n'est « pas agglutiné par le sérum des enfants malades, le sérum nor- « mal n'agglutine pas le B. coli infectieux, le sérum normal « n'agglutine pas le B. coli normal. »

En somme, d'après M. Lesage, dans les infections gastro-intestinales aiguës avec colibacilles virulents dans les selles, l'agglutination existe très fréquemment. Elle manque, au contraire, le plus souvent dans les infections chroniques, sans qu'il soit précisé s'il y a également dans ces cas des colibacilles virulents. D'après ce que nous savons sur l'agglutination en général, nous trouvons là un élément en faveur de la nature colibacillaire de ces infections aiguës.

Mais, comme M. Widal (1) l'indiquait dans les remarques faites à propos de la communication de M. Lesage, ces recherches ne tenaient pas compte de la mensuration du pouvoir agglutinatif constaté, élément dont nous avons montré toute l'importance. Aussi, sur le conseil de M. Widal, avons-nous entrepris dès notre arrivée dans le service du Professeur Hutinel, à l'Hospice des

(1) F. Widal. *Soc. de biol.*, 16 octobre 1897.

Enfants-Assités, toute une série de recherches dans le but de fixer d'une façon aussi précise que possible cette question de l'agglutination des colibacilles par les sérums des malades atteints d'infections gastro-intestinales. Le résumé de ces recherches a été fait par M. Widal à la Société médicale des hôpitaux, le 18 novembre 1898 et publié par nous à la Société de biologie, le 26 novembre 1898. Nous rapportons dans ce travail les observations qui ont fait l'objet de notre note.

Nous avons recherché le pouvoir agglutinant du sérum du sang de nos malades vis-à-vis du colibacille retiré de ses selles. Celui-ci était isolé par l'ensemencement des matières fécales en dilutions successives sur trois tubes de gélose, comme nous l'avons indiqué plus haut, ce qui nous permettait de noter, en même temps que les colibacilles, les autres espèces microbiennes. La virulence de ces colibacilles était expérimentée aussitôt après l'obtention en culture pure, en inoculant sous la peau d'un cobaye du poids moyen de 300 gr. une culture en bouillon de 24 heures. Dans l'exposé qui va suivre, nous considérerons comme virulents les colibacilles tuant rapidement (en moins de 24 heures), à cette dose ou à des doses moindres, le cobaye par septicémie généralisée. L'agglutination était étudiée en employant la méthode dite extemporanée et en faisant des mensurations suivant le procédé décrit par Widal et Sicard pour le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde (1). Nous nous sommes servi soit de cultures en bouillon, soit d'émulsions dans du bouillon de cultures sur gélose, âgées au plus de 24 heures. Nos préparations étaient suivies pendant 2 heures consécutives. Nous avons répété nos examens du sang aussi fréquemment que possible, quelquefois même tous les jours de la maladie. Cependant il arrive que les premiers jours, cet examen ne peut être pratiqué, car le colibacille n'est pas encore isolé. De plus, une des grandes difficultés de la recherche, c'est la faible quantité de sang que l'on peut obtenir chez des

(1) Widal et Sicard. Étude sur le séro-diagnostic. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1897, p. 397.

enfants petits et perdant de grandes quantités d'eau par l'intestin. On a souvent à peine de quoi faire les quelques dilutions indispensables.

Nous groupons nos observations en deux catégories. Dans la première, sont réunis les cas où nous avons isolé dans les matières fécales des colibacilles virulents ; dans la deuxième, les colibacilles ne tuaient pas le cobaye aux doses indiquées. Dans chaque catégorie les observations sont classées dans l'ordre suivant lequel elles ont été recueillies.

A. — Agglutination dans les cas où il y a des colibacilles virulents dans les selles.

Observation IX. — Léon Gouv..., né le 2 décembre 1897, entre le 26 avril 1898 avec de la diarrhée et de la fièvre. Les jours suivants, la diarrhée persiste, la température atteint et dépasse 39°. Finalement après une période où la température est moins élevée, elle remonte brusquement à près de 40° et le malade meurt le 7 mai.

Dans les selles du 6 mai, on isole un colibacille virulent à 1 centim. cube et un bacille pyocyanique, tuant le cobaye à 1/4 centim. cube, des streptocoques, du proteus.

Le sérum du malade recueilli le 5 mai et le sang du cœur n'agglutinaient pas le colibacille à 1 p. 10, ni le bacille pyocyanique.

Observation X. — Odette Delau..., âgée de 33 mois, entre en médecine le 6 mai 1898, venant du pavillon de la rougeole, avec de la fièvre, de la broncho-pneumonie et de la diarrhée.

Des selles du 10 mars, on isole un colibacille virulent à 1 centim. cube et de nombreux streptocoques.

Le colibacille n'est pas agglutiné par le sérum de la malade, le 10 et le 14 mars.

Observation XI. — Amélie Cher..., née le 12 février 1898, entre en médecine le 23 mai 1898. Enfant suspect de syphilis héréditaire. Diarrhée sans fièvre à l'entrée. Puis le surlendemain, élévation brusque de la température (41°), diarrhée verte abondante et mort avec convulsions.

A l'*autopsie*, anses intestinales distendues par les gaz. Intestin décoloré : plaques de Peyer rosées et légèrement tuméfiées. Foie gros, marbré de taches violacées. Rate un peu grosse. Reins congestionnés. Pas de lésions pulmonaires.

Des selles diarrhéiques vertes ensemencées le jour de la mort, on isole deux variétés de colibacilles : A, virulent à 1/4 centim. cube, B, donnant seulement une eschare à la dose de 1 centim. cube, et des streptocoques en assez grande abondance.

Le sang du cœur n'agglutine aucun de ces deux colibacilles à 1 p. 10.

Observation XII. — André Vac..., né le 31 mai 1897, entre le 11 juin 1898. Rachitisme. Hydronéphrose droite. Infection intestinale avec selles blanches, fermes, fétides.

Des selles du 11 juin, on isole un colibacille virulent à 1 centim. cube et des streptocoques assez abondants, dont 1 centim. cube tue la souris en neuf jours.

Ce colibacille n'est pas agglutiné par le sérum du malade le 15 juin, deux jours après la chute de la température.

Observation XIII. — Marie Coin..., née le 17 décembre 1897, entre le 19 juin 1898. Diarrhée légère, sans fièvre, qui persiste les jours suivants.

Le 25 juin, élévation de la température, avec diarrhée, distension de la fontanelle, raideur des membres. Mort le 28 juin en hyperthermie (41⁶).

A l'*autopsie*, lésions du tube digestif (congestion, tuméfaction légère des plaques de Peyer), congestion des poumons avec petit foyer de broncho-pneumonie.

Dans les selles du 21 juin, colibacille virulent, streptocoque peu abondant tuant la souris en 4 jours à dose de 1 centim. cube.

Séro-réaction négative, les 21 et 23 juin, en période apyrétique, les 25 et 26 juin en période fébrile.

Observation XIV. — Louis Wat..., né le 18 mai 1897, entré à la crèche le 11 juillet 1898 et le 20 juillet en médecine avec 38°,5 et de la diarrhée. Les jours suivants, persistance des phénomènes d'infection, avec température oscillant de 37°,5 le matin à 38°,5 le soir.

Le 23 juillet, amélioration ; la fièvre cesse, et les selles redeviennent normales.

Le 20 juillet, on isole des selles un colibacille tuant à 1 centim. cube un cobaye de 300 gr. en moins de vingt-quatre heures, et un bacille resté indéterminé.

Le colibacille n'est pas agglutiné à 1 p. 10 par le sérum du malade, le 21 et le 22 juillet.

Observation XV. — Alice Gra..., née le 13 juin 1897, entre à la crèche le 9 août 1898. Le 15 août, elle est prise de fièvre (39°,8) et de diarrhée abondante.

Les jours suivants, la température reste à 39°, puis elle atteint et dépasse 40°. La diarrhée et les phénomènes infectieux persistent. En outre, apparaît de la raideur des membres et de la nuque, et la malade meurt le 20 août, avec une température de 40°,8 et des convulsions. La durée de la maladie a été de six jours.

Le 16 août, les selles sont ensemencées. On isole deux variétés de colibacilles et un streptocoque peu abondant.

Le colibacille A ne tue pas, à la dose de 1 centim. cube de culture en bouillon de vingt-quatre heures, un cobaye de 280 gr. en inoculation sous-cutanée. Il provoque seulement la formation d'une escarre.

Le colibacille B tue, à la même dose, un cobaye du même poids, en moins de vingt-quatre heures.

Le streptocoque n'est pas virulent.

L'agglutination par le sérum de la malade a été recherchée tous les jours de la maladie, sauf le premier, c'est-à-dire 5 fois. A 1/10, ce sérum n'a jamais agglutiné aucun des deux colibacilles A et B.

Observation XVI. — Georgette Veuil..., née le 13 juillet 1898, entre le 16 août avec de la fièvre (38°,4) et de la diarrhée. La fièvre persiste, avec une légère rémission jusqu'au 22, de même que les phénomènes gastro-intestinaux. Puis la convalescence se fait progressivement.

Le 17 août, on isole des selles un colibacille A non virulent et un colibacille B tuant le cobaye à la dose de 1 centim. cube.

La séro-réaction pratiquée tous les jours du 17 au 22 août, c'est-à-dire six jours de suite, et ultérieurement, le 3 septembre, en pleine amélioration, est constamment négative avec le colibacille B.

Observation XVII. — Jeanne Mig..., née le 1er mai 1898, entre en médecine le 18 août, avec 41°,2, et de la diarrhée.

Les jours suivants la température s'abaisse, oscille d'abord entre 38° et 39°, puis autour de 38°, en même temps que les phénomènes intestinaux s'atténuent. Le 26 août, la température est redevenue normale.

Dans les selles (19 août), on isole un colibacille tuant rapidement à 1 centim. cube un cobaye de 330 gr., et des streptocoques abondants non virulents pour la souris à la dose de 1 centim. cube.

La séro réaction est recherchée à partir du 23 août alors que la température atteint encore 38°,4. Pratiquée pendant cinq jours, jusqu'au 27 août, elle est constamment négative. Il en est de même le 31 août, au moment d'une légère poussée fébrile, et le 3 septembre, en pleine période apyrétique.

Observation XVIII. — Maurice Gay..., né le 15 mai 1898, entre le 24 août avec de la fièvre (38°,8), des selles mélangées, fétides, plutôt fermes que diarrhéiques. Les mêmes symptômes persistent jusqu'au 31 août, puis la fièvre tombe trois ou quatre jours. Les phénomènes intestinaux réapparaissent alors, et le malade meurt le 11 septembre avec 40° de température.

Des selles du 25 août, on isole un colibacille, qui, à dose de 1 c. c. tue le cobaye en deux jours et des streptocoques assez abondants.

Séroréaction négative, vis-à-vis de ce colibacille les 25, 26, 27, 28, 31 août, en pleine période d'état, et le 3 septembre, en période d'apyrexie.

Observation XIX. — Louise Ni..., née le 22 février 1897, entre à la crèche le 26 août 1898, en médecine, le 3 septembre, avec 38°,4 et de la diarrhée ; la fièvre persiste jusqu'à sa sortie, le 6 septembre.

Dans les selles du 3 septembre, on isole un colibacille A, tuant rapidement à 1 c. c. un cobaye de 290 gr. et un deuxième colibacille B non virulent à la même dose.

La séroréaction recherchée pendant les quatre jours avec le colibacille B a été négative. De même, avec le colibacille A, le 6 septembre, seul jour où, par suite d'une erreur, elle ait été recherchée.

Observation XX. — Pri..., né le 2 juin 1898, entré à la Nourricerie le 14 septembre. Athreptique. Pemphigus généralisé. diarrhée verte abondante, fièvre (39°,4). Les jours suivants, la diarrhée persiste ainsi que la fièvre qui atteint 40°, et le malade meurt le 20 septembre dans l'hypothermie.

A l'*autopsie*, tuberculose miliaire du foie et de la rate, gros tubercule caséeux dans le poumon droit. Pas de lésions intestinales macroscopiques.

Les selles diarrhéiques ensemencées le 16 septembre, contiennent un colibacille tuant rapidement à 1 c. c. de culture en bouillon de 24 heures, un cobaye de 295 gr.

Le sérum du malade, recueilli chaque jour depuis le 16 septembre jusqu'à la mort, de même que le sang du cœur n'agglutinent pas à 1 p. 5 ce colibacille.

Observation XXI. — Henri Blai..., né le 28 novembre 1898, entre à la Nourricerie le 27 décembre.

Poids, 2,640 gr. Anus et lèvres fissurées. Érythème papuleux des fesses. T. 37°,9.

Selles normales contenant entre autres espèces qui n'ont pas été isolées, un colibacille, dont 1 c. c. tue le cobaye.

Il meurt le 31 décembre de broncho-pneumonie. Syphilis hépatique. Altérations de la moelle osseuse.

A 1/10, agglutination faible du colibacille.

B. — Agglutination dans les cas où il n'y a pas de colibacilles virulents dans les selles.

Observation XXII. — Marie Tar..., âgée de 7 mois, entrée à la crèche le 13 mai 1898, en médecine le 17 mai, avec de la diarrhée sans fièvre. Puis, les 20 et 21, poussée de fièvre passagère.

Le 18 mai, isolement des selles d'un colibacille non virulent.

Le sérum, recueilli les 18 et 20 mai, n'agglutine pas ce colibacille.

Observation XXIII. — Marie Clau..., âgée de 3 mois, entre en médecine le 22 juin 1898, avec de la fièvre (38°) et de la diarrhée.

Cet état persiste jusqu'au 26 juin. Puis, après une phase d'amélioration, les troubles d'infection gastro-intestinale réapparaissent et elle meurt le 16 juillet.

Le 23 juin, on isole des selles un colibacille non virulent à 1 centimètre cube pour un cobaye de 330 grammes, et un B. mesentericus.

La séro-réaction, pratiquée les 23 et 25 juin, est positive (1/20); le 26 juin, elle est négative à 1/10.

Observation XXIV. — Auguste B..., âgé de 1 mois, entre en médecine le 24 juin 1898. Diarrhée non fébrile.

Dans les selles, colibacille non virulent, qui n'est pas agglutiné par le sérum du malade, pris le 30 mai.

Observation XXV. — Geneviève Tail..., née le 9 septembre 1897, entre en médecine le 11 juillet 1898. Syphilis héréditaire. Rachitisme. Constipation.

Le 13 juillet, 39°,2, selles fermes, mais d'une fétidité extrême. Persistance de la fièvre, diarrhée les jours suivants, et mort le 16 avec 40°,2.

Le 14 juillet, on isole des selles un colibacille non virulent, à la dose de 1 centimètre cube, un streptocoque abondant et du proteus.

Avec le sérum du 14, agglutination de ce cobacille à 1 p. 30 : avec celui du 16, pas d'agglutination à 1/10; avec le sang du cœur, agglutination . 1 p. 10.

Observation XXVI. — Gustave Ger..., né le 23 février 1897, entre à la crèche le 22 août 1898, en médecine le 28 août, avec 38°,2, selles blanches fermes, fétides. Les jours suivants la température atteint et dépasse 39°, puis elle s'abaisse pour remonter le 4 septembre, élévation due à une broncho-pneumonie.

Dans les selles du 28 août, on isole un colibacille non virulent et des streptocoques assez abondants.

Séro-réaction négative, les 29, 30, 31 août, en pleine période fébrile.

Agglutination faible à 1/10 le 3 septembre, en période apyrétique, négative le 5 septembre, pendant la seconde poussée fébrile.

Observation XXVII. — Mélanie Pl..., née le 8 juillet 1898, entre en médecine le 24 septembre avec de la diarrhée, les yeux excavés, du refroidissement des extrémités, et 37°,8. Les jours suivants, la température s'élève, à grandes oscillations (38°-39°,4). Elle redevient normale le 30 septembre.

Dans les selles du 24 septembre, colibacille non virulent.

Séro-réaction du 25 au 28 septembre; 1/10 les 29 et 30, mais tardivement ou d'une façon peu nette.

Observation XXVIII. — Charlotte Au..., née le 30 novembre 1898, entre à la Nourricerie le 25 décembre.

Poids, 2,580 gr. Traces de pemphigus ; lèvres un peu fissurées, Érythème papuleux des fesses. T. 37°,6.

Selles normales renfermant deux colibacilles non virulents à 1 centimètre cube et des streptocoques.

Le sérum agglutine le colibacille A à 1/50, n'agglutine pas le colibacille B à 1/10, le 28 décembre.

L'enfant meurt le 30 décembre, avec de la diarrhée, sans fièvre. Intestin un peu congestionné. Foie gras. Poumons normaux.

Les observations dont nous venons de donner le résumé, au nombre de 20, comprennent donc 13 cas, où les selles contenaient des colibacilles virulents, et 7 cas dans lesquels ces colibacilles étaient dépourvus de propriétés pathogènes pour le cobaye, dans les conditions indiquées.

Dans la première catégorie de faits, nous n'avons observé qu'une seule fois une légère agglutination à 1/10 (obs. XXI) et il s'agissait d'un syphilitique héréditaire, dont les selles normales con-

tenaient un colibacille virulent. Quant aux autres cas, la recherche de l'agglutination nous a donné des résultats négatifs. Parmi ceux-ci, il y a 8 observations d'infections aiguës, qui ont revêtu cliniquement les formes diverses que l'on peut observer, avec fièvre d'intensité variable, quelquefois très élevée, évolution plus ou moins rapide, pronostic plus ou moins grave. Dans certaines de ces observations nos examens de sérum n'ont eu lieu qu'une ou deux fois, mais dans d'autres la séro-réaction a été recherchée à plusieurs reprises et même tous les jours de la maladie, cinq, six, sept fois comme dans les observations XV, XVI, XVII, XVIII, XX, ce qui donne à nos conclusions une grande valeur, en montrant qu'il n'y a pas eu d'agglutination même passagère. Les autres observations rentrent dans la catégorie des infections subaiguës. Dans trois de nos observations nous avons en outre recherché, sans la constater, l'agglutination avec les colibacilles non virulents, qui existaient à côté des colibacilles virulents (obs. XI, XV, XIX).

Dans les cas, où les colibacilles des selles n'étaient pas virulents, nous avons constaté 5 fois sur 7 une agglutination plus ou moins marquée. Dans l'observation XXV, le sérum agglutine le colibacile une seule fois sur trois examens à 1/30. Dans l'observation XXVI, la recherche qui avait été négative, à trois reprises, en pleine période fébrile, fut positive à 1/10 pendant l'apyrexie, d'une façon toute passagère, puisque l'agglutination avait disparu 2 jours après. Dans l'observation XXIII, agglutination passagère à 1/20. Dans l'observation XXVII, agglutination faible à 1/10, à la chute de la température, alors qu'elle avait été nulle à quatre reprises pendant la période fébrile. Dans l'observation XXVIII, chez un athrepsique, agglutination d'un des colibacilles à 1/50, alors qu'il n'y avait ni diarrhée, ni fièvre.

On voit, par les résultats que nous venons d'exposer, que l'agglutination des colibacilles par les sérums des malades atteints d'infections gastro-intestinales est un phénomène très inconstant,

puisque nous ne l'avons qu'exceptionnellement constatée, en nous conformant aux règles indiquées au début de cette étude. Elle ne paraît pas, en tout cas, être en rapport avec la virulence des colibacilles intestinaux, puisqu'elle n'existait pas dans les cas où ces colibacilles étaient pathogènes pour le cobaye. Quant aux quelques résultats positifs que nous avons obtenus, nous ne saurions leur attribuer une grande importance, étant donné le faible degré du pouvoir agglutinatif; cette agglutination en effet ne dépassait pas les limites de celle que l'on peut observer avec les sérums normaux. Nous ne tirerons non plus aucune déduction du fait que l'agglutination a été plus fréquemment constatée dans les cas où les colibacilles n'étaient pas virulents que dans ceux où ils étaient virulents ; il n'y a là, pensons-nous, qu'un hasard, et il serait possible, que l'étude d'une autre série de faits donnât des résultats différents sous ce rapport.

Pendant que nous poursuivions nos recherches, des recherches du même genre étaient entreprises en Allemagne par Escherich (1) et son élève Pfaundler (2). Les conclusions de ces auteurs sont conformes aux nôtres, et viennent leur apporter le poids de leur autorité. Escherich, en effet, n'a constaté que 3 fois l'existence de l'agglutination, par le sérum du malade, du colibacille retiré de ses selles, chez des enfants de 11 mois, de 17 mois et de 2 ans 11 mois, présentant les symptômes d'une colite dysentériforme, avec selles peu copieuses et muco-purulentes, contenant des colibacilles qui n'étaient pas particulièrement virulents. Les nouvelles recherches de M. Lesage (3), poursuivies depuis sa première communication, le conduisent également à la même conclusion : « L'agglutination pour le B. coli des entérites est variable, inconstante et ne peut servir au diagnostic

(1) ESCHERICH. *Loc. cit.*, 1898.

(2) PFAUNDLER. Ueber serodiagnostiche Fragen in der Pädiatrie. *Münchener medinische Wochenschrift*, 25 octobre 1898, p. 1391.

(3) LESAGE. *Bull. et mém. de la Soc. méd. des hôp.*, 18 nov. 1898. Réponse à l'exposé que M. Widal avait fait de nos recherches.

de la maladie comme dans la fièvre typhoïde... L'agglutination me paraît un fait accessoire, qui n'a rien à faire avec les autres questions de l'infection et de l'intoxication. Je dirai de plus, que l'agglutination est souvent très faible au 1/30, au 1/50, au 1/100, que le sang normal peut également posséder cette propriété, à tel point que j'ai souvent observé du sang normal agglutiner le B. coli à 1/200, à 1/300 ».

Des faits que nous venons d'exposer résulte donc cette conclusion générale que l'agglutination est un phénomène trop inconstant au cours des infections gastro-intestinales des jeunes enfants pour permettre une conclusion positive en faveur du rôle pathogène des cobacilles dans ces infections. Elle ne permet pas, par contre, de tirer des conclusions négatives. De ce que le sérum de nos malades n'agglutinait pas les colibacilles, nous n'en concluron pas que ceux-ci ne jouaient aucun rôle. Certaines raisons peuvent être en effet invoquées pour expliquer la rareté de cette agglutination.

La première cause de cette rareté de l'agglutination est dans ce fait que les infections gastro-intestinales aiguës ont souvent une marche rapide, soit qu'elles évoluent vers la guérison, soit qu'elles se terminent par la mort. On conçoit que dans ces cas, l'organisme ne soit pas assez vivement ou plutôt assez longuement impressionné pour réagir par la production de substance agglutinante. Si dans la fièvre typhoïde, l'agglutination peut apparaître d'une façon précoce, dès le troisième et le quatrième jour de la maladie, il ne faut pas oublier qu'il existe dans cette maladie une période d'incubation de longue durée, pendant laquelle l'organisme est déjà soumis à l'action du processus infectieux. Cependant cette explication ne saurait s'appliquer à tous les cas, car la séro-réaction dans les infections gastro-intestinales n'apparaît pas, même quand l'infection se prolonge. Peut-être cela tient-il à ce que le microbe pathogène reste localisé à l'intestin, n'envahissant les organes qu'à la période ultime et non pas d'une façon précoce comme dans

la fièvre typhoïde, où le bacille d'Eberth pullule dans la rate. Or, les conditions dans lesquelles se trouvent les colibacilles infectants dans le milieu intestinal sont peut-être défavorables à la formation des substances qui doivent, en impressionnant l'organisme, amener l'apparition de la propriété agglutinante. Peut-être aussi cette substance est-elle difficilement absorbée par la muqueuse digestive? Remarquons que dans notre observation d'agglutination très marquée, recueillie avec M. Widal, le paracolibacille pullulait dans le corps thyroïde. Il faut tenir compte d'ailleurs de la difficulté que l'on a souvent, expérimentalement, à obtenir l'apparition de la séro-réaction par les inoculations sous-cutanées de colibacilles (Achard) (1). Cette difficulté est encore plus grande quand on utilise des toxines comme l'a vu M. Widal avec la toxine typhique et comme nous l'avons vu nous-même pour les toxines colibacillaires. Or dans la plupart des cas, les infections gastro-intestinales sont surtout des toxi-infections. Quant à l'hypothèse émise par M. Lesage (2), qui invoque la coexistence d'autres microbes dans l'intestin comme devant empêcher l'agglutination de se produire, elle est contraire aux expériences de Widal et Sicard (3); ces auteurs ont montré, en effet, qu'on pouvait obtenir chez un même animal un sérum doué de propriétés agglutinatives à la fois par le bacille typhique, le vibrion cholérique, des colibacilles, le pneumo-bacille, le proteus, par inoculation simultanée des cultures de ces microbes. Nous-même, dans des recherches poursuivies avec M. Widal (4), avons inoculé à des cobayes des vibrions cholériques, des vibrions aquatiques ou intestinaux, et avons vu que leur sérum, malgré ces superpositions, acquérait la propriété de les agglutiner. Et, d'ailleurs, en se rapportant à nos observations,

(1) Achard in Bensaude. *Loc. cit.*

(2) Lesage. A propos de l'infection gastro-intestinale des jeunes enfants, *Soc. de biol.*, 3 décembre 1898.

(3) Widal et Sicard. *Loc. cit.*, p. 393.

(4) F. Widal. Les associations microbiennes dans l'organisme. *Rapport au IVe Congrès français de médecine.* Montpellier, 13 août 1898, p. 74.

il est facile de constater que, dans les cas où l'agglutination était le plus marquée, les colibacilles n'existaient pas en culture pure dans les matières fécales.

En résumé, aucune des méthodes bactériologiques actuelles ne permet d'affirmer le rôle des colibacilles dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants (1).

(1) R. Fischl, dans un travail tout récent (De l'infection digestive chez le nourrisson. *Rev. mens. des mal. de l'enfance*, mai 1899), va même plus loin : « Mais, dit-il, ce que nous devons, à mon avis, rejeter d'une façon absolue, c'est l'importance du colibacille dans la pathogénie de l'infection digestive, soutenue par Lesage et ses élèves. » Nous estimons cependant que l'opinion de Fischl est trop absolue, et nous verrons plus loin que l'on peut encore attribuer un certain rôle pathogène aux colibacilles.

CHAPITRE II

Existe-t-il une race de colibacilles spéciale aux infections gastro-intestinales aiguës d'été ?

Si, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, l'étude de l'agglutination des colibacilles intestinaux par les sérums des malades, ne peut renseigner, dans la plupart des cas, sur le rôle de ces colibacilles dans les infections gastro-intestinales, il est une autre question à laquelle ce procédé d'étude peut apporter son appoint ; c'est celle de l'existence d'une race colibacillaire spéciale dans les infections aiguës d'été.

Le sujet mérite l'attention. Ces infections redoutables, qui surviennent pendant la saison chaude, apparaissant d'une façon à peu près fixe une huitaine de jours après le début des chaleurs, frappant un grand nombre d'enfants, dont elles augmentent la mortalité, contagieuses, revêtent bien les allures d'une maladie épidémique.

On ne sait pas encore d'une façon précise comment il faut comprendre la pathogénie de ces infections estivales. S'agit-il d'une infection exogène par le lait contenant des microbes virulents (Lesage), ou d'une intoxication par un lait altéré par les saprophytes (Marfan) ? S'agit-il d'une infection consécutive à la déglutition de bactéries virulentes contenues dans la bouche ou d'une exaltation de la virulence des germes normaux de l'intestin, sous l'influence de la chaleur ? Il est probable que, suivant les cas, chacun de ces processus peut se trouver réalisé. Avant l'entrée dans la pratique des laits stérilisés, les infections exogènes semblaient devoir être admises comme la règle. Depuis que ces laits stérilisés sont en

usage, les infections d'été n'en persistent pas moins malgré toutes les précautions usitées (Variot (1), Lesage (2). La question de leur pathogénie est donc loin d'être résolue ; les phénomènes ne sont pas aussi simples qu'on avait pu le penser tout d'abord. Les faits existent, bien constatés ; leur interprétation manque.

La solution serait facilitée si, dans ces infections à caractère épidémique, se rencontrait un germe spécial, spécifique en quelque sorte, analogue au bacille d'Eberth pour la fièvre typhoïde, au vibrion de Koch pour le choléra asiatique. Malheureusement, il n'en est rien. Il n'y a pas un germe unique comme agent de ces infections. Ce sont les diverses espèces de saprophytes normaux que l'on peut seules incriminer ; W. Booker (3), Baginsky (4) en ont trouvé jusqu'à 19 ; les plus fréquentes sont les colibacilles, les streptocoques, les proteus, germes quelquefois isolés, mais le plus souvent coexistant en plus ou moins grand nombre.

De cette constatation ne découle pas nécessairement la non-existence d'un germe spécial. Les différences dans l'espèce incriminée peuvent tenir à ce que les observations ont été recueillies dans des pays divers, en France, en Amérique, en Allemagne. On conçoit très bien que ces infections constituant des épidémies locales et non de grandes pandémies, comme la grippe, le choléra, la peste, la fièvre jaune, ne soient pas partout le fait d'un même germe et que chacune de ces épidémies puisse être due à la reviviscence d'un saprophyte différent. Or, dans cette hypothèse, il est très admissible que ce saprophyte ait acquis des qualités particulières, appartienne à une race spéciale et possède par conséquent un certain caractère de spécifité.

A mesure que les études bactériologiques sont devenues plus

(1) VARIOT. Les diarrhées estivales des enfants et le lait stérilisé à Paris. *Journ. de clin. et de thérap. infantile*, 22 sept. 1898, n° 38.

(2) LESAGE. Laits stérilisés et entérites. *Rev. de thérap. médico-chirurgicale*, 1er oct. 1898, p. 649.

(3). W. BOOKER. *Loc. cit.*, 1889.

(4) A. BAGINSKY. Ueber cholera infantum. *Archiv f. Kinderheilk.*, 1890, XII, p. 1.

précises, on a vu que chaque espèce microbienne n'était pas une, qu'elle comprenait des races nombreuses, unies entre elles par des caractères communs, mais présentant des signes différentiels plus ou moins importants. Ces races sont capables de se transformer l'une dans l'autre; ce transformisme, démontré pour le bacille pyocyanique, par exemple (Charrin), pour le vibrion cholérique (Metchnikoff), pour les streptocoques (F. Widal), est à l'étude pour une des espèces pathogènes les mieux déterminées, le bacille de Koch. Cependant quelques-unes de ces races sont fixées de telle façon que, dans le moment où on les observe, elles présentent une certaine individualité. Cette individualisation de certaines races est discutée actuellement à propos des colibacilles et surtout à propos de ceux des infections que nous étudions. Existe-t-il dans les entérites aiguës d'été une race particulière de colibacilles individualisée par des caractères suffisamment nets, pour permettre de ne plus considérer ces entérites comme des infections de hasard, mal fixées, mais au contraire comme des infections constituant une maladie à part dans le cadre nosographique, isolée par la connaissance de son agent pathogène, comme la fièvre typhoïde l'est pas la connaissance du bacille d'Eberth, ou la tuberculose par celle du bacille de Koch ? Telle est la question dont nous allons nous occuper maintenant.

L'hypothèse de l'existence d'une telle race ne comporte pas d'objection sérieuse *a priori*. Le colibacille banal, et les types paracolibacillaires qui gravitent autour de lui, probablement « se rattachent au même type ancestral » (Gilbert) (1). Soumis à des conditions d'existence différentes, en contact avec une flore bactérienne variée, ces colibacilles, comme les autres saprophytes, se sont modifiés et ont fini par créer des races distinctes, reliées entre elles par des degrés insensibles. Mais ce transformisme, résultat de longues périodes de temps, ne peut guère être obtenu dans la limite d'une expérience de laboratoire et, à part Roger et

(1) GILBERT. *Loc. cit.*

Comte (1) qui ont vu un paracolibacille acquérir, à la longue, les propriétés fermentatives qui lui manquaient tout d'abord, on n'a pas encore transformé l'une de ces races dans l'autre. On peut donc espérer en caractériser une, jouant un rôle important en pathologie, puisque les étapes de leur évolution sont suffisamment lentes, pour que, à un moment donné, elles paraissent être immobilisées dans le temps.

Mais il est difficile de trouver la caractéristique d'une telle race. Les colibacilles isolés dans les infections gastro-intestinales ne présentent, comme nous l'avons vu, aucun signe distinctif, de par la morphologie, la mobilité, la culture. Si donc, sous ce rapport, rien ne les différencie des colibacilles vulgaires, à plus forte raison, rien ne les distinguera les uns des autres.

Un caractère commun à ces différents colibacilles des infections est la virulence, et c'est d'ailleurs sur cette virulence qu'on se fonde pour affirmer leur rôle pathogène. Mais cette virulence ne leur est pas spéciale ; c'est de plus une propriété trop variable pour avoir quelque valeur distinctive. Nous avons insisté à ce sujet dans la première partie ; nous n'y reviendrons pas. Vouloir admettre l'existence d'une race colibacillaire d'après la virulence, irait à l'encontre du but proposé ; ce serait revenir à l'unité des colibacilles, car tous peuvent devenir virulents à un moment donné.

Aucune des méthodes usuelles d'examen ne pouvait donc permettre d'établir l'existence d'une race de colibacilles spéciale, cause des infections gastro-intestinales aiguës épidémiques des jeunes enfants. La découverte du phénomène de l'agglutination des microbes par les sérums spécifiques et les applications, qui en furent faites au point de vue du diagnostic des microbes d'espèces voisines, ont permis d'entreprendre de nouvelles recherches à ce sujet.

Gruber et Durham, utilisant les sérums dilués, suivant le procédé décrit par Bordet, ont montré, en effet, qu'on peut, au moyen de sérums d'animaux immunisés contre le vibrion cholérique ou le

(1) Roger et Comte. Infection secondaire post-rubéolique d'origine intestinale : Hépatite, perihépatite, pleurésie putride. *Presse méd.*, 1897, II, p. 189.

bacille typhique, différencier le vibion cholérique des autres vibrions pseudo-cholériques qui existent dans les eaux et dans les matières fécales, et le bacille d'Eberth d'avec les différents colibacilles ou paracolibacilles. Leurs conclusions ont été confirmées par les recherches de Pfeiffer et Kolle, de Pfeiffer et Vagedes.

Cependant cette méthode d'étude n'était pas entrée dans la pratique usuelle. L'opinion alors admise, que l'agglutination était une réaction d'immunité, faisait que les recherches ne pouvaient être entreprises qu'avec les sérums d'animaux immunisés et nécessitaient de longues suites d'expériences. Le procédé fut simplifié, quand Widal eut montré que l'agglutination est une réaction apparaissant dès la période d'infection, car il est facile de se procurer des sérums de malades ou d'infecter des animaux.

Les règles à suivre pour faire le séro-diagnostic des microbes d'espèces voisines ont été posées par Widal et Sicard (1). Ces auteurs ont montré que, pour comparer au point de vue de l'agglutination deux microbes d'espèces voisines, il ne faut pas se borner à la constatation seule de l'agglutination, mais faire des mensurations exactes du pouvoir agglutinatif. « Dire qu'un même sérum agglutine ou n'agglutine pas deux microbes d'espèces voisines est, pour la pratique, une expression incomplète. L'agglutination a ses règles ; la proportion de sérum à mélanger au bouillon, le procédé à employer pour mettre en présence le sérum et les microbes à examiner sont autant de facteurs importants à préciser et variant suivant les microbes à différencier... Le rôle du bactériologiste n'est donc pas de rechercher seulement les conditions dans lesquelles un même sérum agglutine d'une façon à peu près identique deux microbes d'espèces voisines, mais il est surtout de rechercher les conditions dans lesquelles l'agglutination diffère et peut fournir un procédé de diagnostic. »

(1) Widal et Sicard. Différenciation du bacille typhique et du bacille de la psittacose. Règles à suivre pour la différenciation des microbes d'espèces voisines par l'action des sérums. *Compt. rendus de la Soc. de biol.*, 28 nov. 1896, et *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1897, p. 387 et 390.

En appliquant la méthode des mensurations du pouvoir agglutinatif, Widal et Sicard ont fait voir que les divers échantillons de bacille d'Eberth, quelle que soit leur provenance, sont agglutinés à un taux analogue par les mêmes sérums typhiques. Il y a des différences entre eux, mais elles sont trop minimes pour qu'on ait à en tenir compte dans la pratique. La séro-réaction vis-à-vis du bacille d'Eberth a donc un caractère spécifique des plus nets. Si, au contraire, on met en présence d'un sérum typhique un colibacille ou un paracolibacille, on constate, entre le taux de l'agglutination du sérum pour le bacille d'Eberth et pour ces divers échantillons, des différences marquées. On trouve dans cette étude un caractère distinctif de haute valeur dont Widal et Sicard se sont servis pour différencier le bacille de la psittacose du bacille d'Eberth.

Des résultats analogues ont été obtenus pour les vibrions cholériques avec les sérums des infectés. Achard et Bensaude (1) ont vu, en étudiant le séro-diagnostic du choléra, que les échantillons appartenant au type ordinaire du vibrion de Koch, tel que Pfeiffer l'a défini au moyen de son phénomène, et seul cause du choléra épidémique, se laissent seuls agglutiner par le sérum des cholériques. Au contraire, les vibrions qui en diffèrent, le vibrion de Metchnikoff, le vibrion de Finkler et le vibrion de Massaouah qui, bien que cholérique vrai, ne présente pas la réaction de Pfeiffer, ne sont pas agglutinés. D'autre part, avec M. Widal (2), nous avons constaté que le vibrion cholérique n'est jamais agglutiné, tout au moins à un taux comparable, par des sérums préparés avec des vibrions aquatiques et inversement, et Dunbar (3) est arrivé simultanément aux mêmes conclusions.

(1) ACHARD et BENSAUDE. Séro-diagnostic du choléra asiatique chez l'homme. *Presse méd.*, 26 sept. 1896, p. 504. *Soc. méd. des hôp.*, 23 avril 1897. — BENSAUDE. *Loc. cit.*, p. 142.

(2) F. WIDAL. *Loc. cit.*, 1898, et Choléra asiatique. In *Traité de médecine*, II. 2e éd., 1899.

(3) DUNBAR. 9e *Congrès internat. d'hygiène et de démographie*. Madrid, 11 août 1898. In *Presse méd.*, 1898, II, p. 204.

On voit donc que, pour la différenciation du bacille d'Eberth et des colibacilles, des vibrions cholériques et des vibrions voisins, les résultats concordent, qu'on emploie des sérums d'immunisés ou d'infectés. Pour ces microbes, l'agglutination constitue un caractère précieux d'identification ou de différenciation.

L'application des mêmes méthodes à l'étude des colibacilles est loin d'avoir donné des résultats identiques. Elle a montré, en effet, la variété des échantillons de colibacilles, variété constatée antérieurement par les autres procédés de recherches.

Expérimentalement, Durham (1) a vu que le sérum d'un animal immunisé par un échantillon de colibacille agglutine cet échantillon, mais n'agglutine pas ou n'agglutine que faiblement d'autres échantillons de colibacilles, et Achard (2) avec le sérum d'animaux infectés par le colibacille, a fait une constatation analogue. Mais ces auteurs recherchaient seulement l'existence ou non de l'agglutination à la dilution de 1 p. 10. Avec M. Widal (3), nous avons poussé plus loin l'analyse des faits et nous avons montré, par la mensuration du pouvoir agglutinatif des sérums, « que les différents échantillons de colibacilles recueillis chez l'homme sain ou malade, malgré leur aspect de similitude, sont souvent complètement distincts » ; la séro-réaction nous a permis de caractériser le paracolibacille isolé par nous dans une thyroïdite suppurée et de lui donner une place à part dans le groupe des paracolibacilles, à côté du bacille de la psittacose et du bacille de la septicémie des veaux. La conclusion de notre travail était la suivante : « On peut se demander si la séro-réaction ne permettra pas de tirer du groupe confus des infections coliennes quelques types principaux fréquemment observés en clinique. La comparaison attentive d'un grand nombre d'observations recueillies, comme la nôtre, dans des conditions propres à l'étude précise de la séro-réaction sur le

(1) DURHAM. On a special action of the serum of highly immunised animals. *Journal of Pathol. and Bacteriol.*, juillet 1896, p. 37.

(2) ACHARD, in BENSAUDE. *Loc. cit.*, p. 196.

(3) WIDAL et NOBÉCOURT. *Loc. cit.*

microbe pathogène, permettra seule la solution de ce problème. Cette solution n'intéresse pas seulement la nosographie, mais encore le diagnostic... et le traitement, car si la sérothérapie des maladies à colibacilles entre un jour dans la pratique, elle ne sera applicable que lorsqu'on saura reconnaître de quel sérum spécifique est justifiable une infection colienne. »

Les règles à suivre et la valeur de la méthode pour l'étude des races colibacillaires à l'aide de l'agglutination étant donc nettement établies, il convenait de rechercher si l'observation des faits justifierait les hypothèses. M. Lesage étudia la question pour les infections gastro-intestinales aiguës des jeunes enfants. Dans sa note du 16 octobre 1897, il constate que dans les 40 cas où le sérum des enfants agglutinait le colibacille des selles des mêmes enfants, « le sérum de ces 40 enfants agglutinait en plus les 39 b. coli des 39 autres enfants atteints de la même maladie ». Puis il immunise un cheval avec une bonne toxine sécrétée par ces b. coli et obtient « un sérum qui leur est spécial et qui agglutine tous les 40 b. coli positifs d'une part et 93 autres coli provenant de 113 enfants atteints de la maladie », tandis que des sérums fabriqués avec de mauvaises toxines n'ont aucune propriété agglutinante. Et il conclut : « De tous ces faits on est autorisé à penser que tous ces b. coli des entérites des nourrissons appartiennent à une même race particulière... Le séro-diagnostic nous paraît être un bon moyen de diagnostic de la race, beaucoup plus important et plus stable que les diverses réactions classiques. »

Les conclusions de M. Lesage confirmaient donc la valeur de l'agglutination pour le diagnostic des races microbiennes, et établissaient l'existence d'une race de colibacilles particulière dans les infections gastro-intestinales aiguës des jeunes enfants. De plus, sans que l'auteur l'énonçât en propres termes, le séro-diagnostic de ces infections découlait tout naturellement de ses recherches, puisque tous les échantillons de colibacilles infectieux étaient agglutinés par les sérums des malades, 40 fois sur 50.

Mais cependant pour donner toute leur valeur à ces conclusions

il fallait les vérifier, en appliquant la méthode des mensurations, mensurations dont nous avons montré plus haut la nécessité. Ce sont les recherches entreprises dans ce but, dont les conclusions ont été publiées à la Société de biologie, le 26 novembre 1898, que nous allons exposer maintenant.

Comme nous l'avons vu dans la première partie de ce travail, les sérums de nos malades ne pouvaient être utilisés à cause de l'inconstance de l'agglutination constatée. Nous avons dû faire des recherches expérimentales sur les animaux ; nous avons inoculé à des lapins et à des cobayes des cultures vivantes d'un certain nombre d'échantillons de colibacilles isolés dans des infections gastro-intestinales aiguës d'été jusqu'à l'apparition d'un pouvoir agglutinatif plus ou moins élevé de leurs sérums pour l'échantillon pathogène ; à ce moment, nous avons étudié comparativement l'action de ces sérums sur les autres échantillons de colibacilles. Nos recherches ont porté sur 13 des colibacilles isolés au cours des infections dont les observations sont rapportées plus haut (1) : neuf virulents (IX, XI-A, XII, XIII, XV-B, XVI-B, XVII, XVIII, XIX-A), quatre non viruients (XI-B, XVI-A, XXIV, XXVI). Parmi les virulents, nous noterons spécialement les colibacilles XV-B, XVI-B, XVII, XVIII, isolés dans des cas d'infections intestinales, observées les 15, 16, 18 et 24 août, c'est-à-dire, dans le même temps, à l'hospice des Enfants-Assistés, par conséquent dans des conditions favorables d'expérience.

Expérience I (2). — Un cobaye reçoit en trente-quatre jours 2 c.c. 1/4 de culture du colibacille IX.

Après ce temps, son sérum agglutiné IX à 1/1000, n'agglutine pas à 1/30 XI-A, XII, XIII, XI-B, XXIV.

(1) Nous donnons à nos échantillons le numéro des observations auxquelles ils correspondent, les lettres A et B distinguent les variétés de colibacilles qui ont été notées dans des mêmes fèces.

(2) Nous ne publions ici que les expériences dans lesquelles nous avons pu obtenir l'apparition du pouvoir agglutinatif. En réalité, pour chacune, il nous a fallu expérimenter sur plusieurs animaux, à cause de la fréquence des morts survenant avant qu'on ait obtenu des résultats positifs.

Expérience II. — Un lapin de 1,600 grammes reçoit en sept jours 2 c.c. 5 de culture du colibacille XI-A.

Au début de l'expérience, son sérum n'agglutinait pas à 1/10 XI-A et XI-B, — au 7e jour il agglutine XI-A à 1/500, XI-B à 1/100, mais n'agglutine pas à 1/30 XIII et XXII.

Expérience III. — Un cobaye reçoit en douze jours 1 c.c. 5 du colibacille XI-B.

Après ce temps, son sérum agglutine XI-B à 1/100, n'agglutine pas à 1/30 XI-A, IX, XII et XIII.

Expérience IV. — Un cobaye reçoit 2 c.c. du colibacille XIII en treize jours. Après ce temps, son sérum agglutine XIII à 1/100 et n'agglutine pas IX.

Expérience V. — Un lapin de 1,970 grammes reçoit en huit jours, en inoculation sous-cutanée, 5 c.c. de culture vivante du colibacille XV-B sans maigrir (2,080 grammes au 8e jour).

Le 12e jour son sérum n'agglutine pas XV-B à 1/10, agglutine XVI-B à 1/50, XVII à 1/10.

Le 40e jour, après que l'animal a reçu 13 c.c. de culture, son sérum agglutine XV-B à 1/100 et n'agglutine pas à 1/30 XVI-B, XVII, XVIII.

Expérience VI. — Un cobaye de 260 grammes reçoit en quinze jours 3 c.c. du colibacille XVI-A. Il se produit une eschare de la paroi abdominale.

Au 17e jour, son sérum agglutine XVI-A à 1/300, n'agglutine pas à 1/30 XV-B, XVI-B, XVIII, XIX, XXVI.

Expérience VII. — Un cobaye de 400 grammes reçoit en cinq jours 2 c.c. de culture vivante du colibacille XVI-B.

Au 9e jour de l'expérience, son sérum agglutine à 1/10 XVI-B, XVI-A, XVII, n'agglutine pas à 1/10 XV-B.

Après une nouvelle dose de 1 c.c. le 9e jour, son sérum, le 13e jour, agglutine XVI-B à 1/100, n'agglutine pas à 1/30 XVI-A, XV-B XVII, XVIII, XXI.

Expérience VIII. — Un cobaye de 330 grammes reçoit en vingt-sept jours 2 c.c. 3/4 de culture de colibacille XVII.

Au vingt-quatrième jour, il meurt.

Le sérum agglutine XVII à 1/300 ; n'agglutine pas à 1/30 XI-A. XV-B. XVI-A, XVI-B, XVIII, XX.

Expérience IX. — 1° Un cobaye de 730 grammes reçoit en huit jours 2 c. c. de culture du colibacille XVIII.

Il meurt le 9e jour.

Le sérum agglutine XVIII à 1/100, n'agglutine pas, XV-B, XVI-B, XVII.

2° Un lapin de 1,650 grammes reçoit en cinq jours 5 c.c. 1/2 de culture du colibacille XVIII.

Au 8e jour, son sérum agglutine XVIII à 1/300, mais n'agglutine pas à 1/30 les autres échantillons déjà expérimentés avec le sérum du cobaye précédent.

Après une nouvelle dose de 2 c.c. le sérum au 16e jour agglutine XVIII à 1/500, mais n'agglutine pas à 1/30 les autres échantillons déjà expérimentés.

L'examen de nos expérieures montre que, après des inoculations répétées plus ou moins longtemps, le sérum d'un animal inoculé avec un échantillon de colibacille virulent ou non, devient agglutinatif pour cet échantillon à un taux variable avec la durée de l'expérience, les doses inoculées, etc. Cette agglutination n'est pas toujours facile à obtenir, surtout avec les colibacilles virulents, car souvent les animaux meurent avant d'avoir pu acquérir la propriété agglutinante. Avec certains échantillons même, nous n'avons pu obtenir de sérum agglutinatif qu'au bout d'un temps très long comme avec l'échantillon XV.

Mais le point intéressant, c'est que ces sérums d'animaux ayant acquis un pouvoir agglutinatif quelquefois assez grand 1 p. 100, 1 p. 300, 1 p. 500, 1 p. 1000 pour le colibacille à eux inoculé, n'acquièrent pas le pouvoir d'agglutiner les autres échantillons ou, si quelquefois on constate l'agglutination, c'est à un taux bien inférieur au taux de l'agglutination pour le pathogène, ce qui exclut toute comparaison.

Nous conclurons donc que les colibacilles des infections gastro-intestinales aiguës d'été des jeunes enfants présentent, au point de vue de l'agglutination par les sérums des animaux infectés à l'aide de cultures vivantes, des différences aussi caractérisées que les colibacilles de provenances diverses que nous avions expérimentés avec M. Widal. L'étude de l'agglutination ne permet donc pas de

faire de ces colibacilles un groupe spécial, une race particulière à ces infections. Peut-être d'autres méthodes de recherches conduiront à des résultats différents, mais actuellement rien ne permet une telle conclusion. D'ailleurs Escherich, dans les trois cas où il a observé l'agglutination des colibacilles des selles par les sérums des malades, a noté également que ces sérums agglutinaient seulement le colibacille du malade dont le sérum provenait et pas les autres colibacilles.

On pourrrait nous objecter que nos colibacilles n'étaient pas à l'état de culture pure dans l'intestin, qu'il y avait d'autres germes, en particulier des streptocoques, et qu'il ne faut considérer. comme relevant d'une race spéciale de colibacilles, que les cas où ceux-ci existent seuls dans l'intestin. A cela nous ferons remarquer qu'en pathologie il est exceptionnel de trouver à l'état isolé le germe pathogène. Est-ce que dans un poumon tuberculeux, où à côté du bacille de Koch, on rencontre une flore microbienne variée, on nie le rôle de ce bacille ? A plus forte raison, quand il s'agit de l'intestin, il ne faut pas être trop exclusif. Dans le choléra, dans la fièvre typhoïde surtout, le vibrion de Koch et le bacille d'Eberth ne sont pas à l'état de pureté. Enfin, pour en revenir aux infections que nous étudions, le nombre de cas, où cette race particulière entrerait en jeu, serait bien restreint : sur douze cas de diarrhée estivale, Greene-Cumston n'a trouvé que trois fois le colibacille en culture pure, tandis qu'il y avait dans les autres cas des streptocoques en petite quantité, comme dans nos observations ; sur vingt-huit cas rapportés par M. Lesage dans son article du *Traité des Maladies de l'Enfance*, « dix-huit fois le bacterium coli était *presque* à l'état de pureté » (on rencontrait en outre quelques rares streptocoques et bacilles mésentériens) et dans les dix autres cas le colibacille formait seulement les deux tiers ou la moitié de la flore ; sur 770 cas de gastro-entérite aiguë, le même auteur n'en a trouvé que 297 où « le milieu intestinal contenait seulement, et en culture pure, des microbes coliformes ». L'objection n'est donc pas valable pour faire rejeter le choix de nos échantillons de colibacilles.

D'après M. Lesage (1), les résultats différents auxquels nous sommes arrivés, lui et moi, tiendraient à ce que j'ai recherché « l'agglutination à l'aide d'un sérum dit *préventif* (obtenu par l'inoculation de corps microbiens) », tandis que lui l'a recherchée « à l'aide du sérum *antitoxique* (obtenu par l'inoculation à doses répétées et progressives de la toxine active d'un de ces bacterium coli) ». — « Par ce moyen, dit-il, on obtient la réunion de ces divers microbes en un groupement. Je réunis de cette façon les bacterium coli que M. Nobécourt sépare. »

Nous ferons remarquer que nous ne nous sommes pas occupé de savoir si les sérums utilisés pour nos recherches étaient ou non préventifs. Nous nous sommes contenté d'infecter des animaux et c'est au cours de ces infections expérimentales que nous avons recherché l'agglutination. Nos animaux étaient malades, présentaient souvent des eschares, des abcès, maigrissaient et même finissaient par mourir. Ce point spécial n'avait d'ailleurs pas lieu de nous préoccuper, puisque dans des recherches antérieures, nous avions démontré avec M. Widal (2), « que les différentes qualités acquises par un sérum au cours de l'infection, tout en semblant parfois marcher de pair, jouissent entre elles d'une indépendance relative. Les propriétés préventive, antitoxique, bactéricide, agglutinante, et même la propriété de transformer les bacilles en granules *in vitro*, coexistent souvent, mais peuvent être dissociées par un même sérum ». On peut, dans un sérum, obtenir l'apparition de la propriété immunisante, sans que ce sérum possède la propriété agglutinative, comme nous l'avons vu avec M. Widal (3), en immunisant des souris contre l'infection éberthienne à l'aide d'urines de typhiques, suivant le procédé indiqué par M. Bouchard. M. Lesage (4), après nous, a d'ailleurs admis le fait : « La réaction physique agglutinante est l'indice d'une

(1) Lesage. *Loc. cit.*, 3 déc. 1898.

(2) F. Widal et P. Nobécourt. *Loc. cit.*

(3) Widal et Nobécourt. Dissociation de la propriété immunisante et de la propriété agglutinative. *Compt. rend. de la Soc. de biol.*, 31 juillet 1897.

(4) Lesage. *Loc. cit.*, 16 oct. 1897.

réaction de l'organisme contre l'intoxication aiguë... Cette réaction est indépendante de la réaction d'immunité, car le sérum peut, pendant le cours de l'immunisation de l'animal, posséder la propriété agglutinante et ne pas encore avoir acquis la propriété d'immunité. »

L'agglutination est donc une propriété spéciale acquise par les sérums au cours d'un processus infectieux, propriété qui traduit la réaction de l'organisme, mais n'a de valeur que pour elle-même, et est indépendante des autres propriétés que peuvent acquérir en même temps les sérums. Cette réaction, comme la plupart des symptômes de l'infection, est déterminée par les produits solubles, par les toxines sécrétées par les microbes. Aussi l'obtiendra-t-on expérimentalement de la même façon, que l'on se serve des microbes vivants ou de leurs produits. On ne conçoit pas qu'une différence dans les résultats puisse exister, puisque, dans les deux cas, le processus est identique, en dernière analyse. C'est du reste ce que montre l'observation des faits.

Nous avons étudié comparativement l'agglutination de certains de nos échantillons par des sérums obtenus, les uns avec les microbes vivants, les autres avec leurs toxines. Nous avons vu, comme le fait avait été déjà constaté par M. Widal pour le bacille d'Eberth, que l'agglutination était beaucoup plus difficile à obtenir avec ces dernières. Dans un seul cas, nous avons pu obtenir un résultat positif et nous avons constaté alors que les différences dans l'agglutination des divers échantillons étaient aussi grandes avec le sérum obtenu à l'aide de la toxine qu'avec le sérum obtenu à l'aide des cultures vivantes.

Voici le résumé de ces expériences :

Expérience X. — Un cobaye de 600 gr. reçoit, en six jours, 11 centim. cubes de culture en bouillon glycériné à 1 p. 100 du colibacille XV-B vieille de 24 jours et filtrée sur bougie.

Au 11e jour, son sérum n'agglutine pas XV-B à 1/10.

Il meurt le onzième jour après avoir maigri de 150 gr.

Expérience XI. — Un cobaye de 750 gr. reçoit en onze jours 12 centim. cubes de culture, en bouillon glycériné à 1 p. 100, du colibacille XVI-B, vieille de 17 jours, filtrée.

Son sérum n'agglutine pas XVI-B au bout de ce temps.

Expérience XII. — Un cobaye de 600 gr. reçoit, en vingt-quatre jours, 34 centim. cubes de culture, en bouillon glycériné, du colibacille XVII, vieille de 17 jours et filtrée.

Son sérum n'agglutine pas les colibacilles XVII, XV-B, XVI-B. et XVIII.

Expérience XIII. — Un cobaye de 700 gr. reçoit en vingt-six jours 25 centim. cubes de culture en bouillon glycériné à 1 p. 100, du colibacille XVIII, vieille de 52 jours, filtrée sur bougie.

Au 30e jour son sérum agglutine XVIII à 1 p. 100 et n'agglutine pas à 1/30 XV-B, XVI-B et XVII.

———

CHAPITRE III

De l'association strepto-colibacillaire dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants.

L'étude bactériologique du contenu de l'intestin dans les infections gastro-intestinales y montre, dans la majeure partie des cas, l'existence d'une flore microbienne complexe. Il n'est pas fréquent de rencontrer une seule espèce en culture pure. Ce cas ne se présente guère que dans les infections aiguës et encore dans un nombre assez restreint d'observations. Habituellement dans ces infections aiguës, comme dans les infections subaiguës et chroniques, le polymicrobisme est la règle.

Cette constatation doit forcément attirer l'attention, et faire penser à un rôle possible des associations microbiennes dans la pathogénie de ces diverses formes d'infections gastro-intestinales. On sait, en effet, toute l'importance que revêtent ces associations en pathologie générale, le rôle qu'elles jouent dans l'étiologie et dans la pathogénie des diverses maladies infectieuses ; chaque jour voit leur domaine s'étendre. Cependant, jusqu'à ces derniers temps, les auteurs ne paraissent pas y avoir attaché grande importance ; tout au moins on ne trouve pas d'étude suivie à ce sujet. On signale la richesse de la flore microbienne, sans essayer de serrer de près l'influence réciproque des différentes espèces.

On peut concevoir de plusieurs façons le rôle des associations dans ces infections, d'après les connaissances générales que nous avons à ce sujet. Il peut s'agir de faits de symbiose microbienne, d'infections mixtes, d'infections secondaires.

Les phénomènes de symbiose microbienne sont des plus intéressants. Dans cette catégorie de faits, un microbe inoffensif

devient pathogène, quand un autre germe, dépourvu lui-même d'activité propre, crée par sa seule présence des conditions telles que le premier puisse pulluler et devenir offensif pour l'individu. Pasteur avait prévu ce rôle, et montré que la pullulation dans l'intestin des germes aérobies, qui absorbent l'oxygène, prépare la voie au vibrion septique, germe strictement anaérobie. Comme l'ont vu Vaillard et Vincent (1), Vaillard et Rouget (2), le bacille du tétanos ne devient dangereux, que s'il est inoculé avec d'autres germes : le cobaye, le lapin peuvent supporter des doses énormes de spores tétaniques débarrassées de la toxine ; mais si on mélange à celles-ci certains microbes, l'animal devient tétanique, ces microbes absorbant toute l'activité phagocytaire des leucocytes, et permettant aux spores de germer. Besson (3) a fait une constatation analogue par le vibrion septique. De Klecki (4) a montré combien, dans les anses intestinales étranglées, la virulence du colibacille était influencée par la présence d'autres microbes et en particulier du Bacillus largus. D'autres exemples de ces faits de symbiose ont été publiés. Mais ce sont surtout les recherches de Metchnikoff (5) sur le choléra expérimental qui peuvent trouver ici leur application. On sait combien il est difficile de reproduire le choléra intestinal chez l'animal par l'ingestion de cultures pures de vibrions cholériques même très virulents ; au contraire, ce savant a obtenu des résultats positifs en faisant ingérer à de jeunes lapins un mélange de vibrions et d'un des microbes, dont il a déterminé l'action favorisante, deux espèces de sarcines et une torula blanche; les ani-

(1) VAILLARD et VINCENT. Contribution à l'étude du tétanos. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1891, p. 1.

(2) VAILLARD et ROUGET. *Ann. de l'Inst. Past*, 1892, p. 386, 1893, p. 755.

(3) BESSON. Contrib. à l'étude du vibrion septique. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 179.

(4) DE KLECKI. Rech. sur la pathog. de la péritonite d'origine intestinale. Ét. de la virulence du colibacille. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 510.

(5) METCHNIKOFF. Rech. sur le choléra et les vibrions. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 562.

maux meurent presque tous, et, fait intéressant à signaler, on trouve presque uniquement dans les selles des vibrions cholériques ; les microbes favorisants ont disparu.

L'intervention de phénomènes de même ordre pourrait éclairer certains points encore obscurs de la pathogénie des infections gastro-intestinales des jeunes enfants. L'apport, en plus ou moins grande quantité, dans le tube digestif, de microbes inoffensifs peut exalter la virulence des germes préexistants, colibacilles ou autres. Ainsi s'expliquerait peut-être l'action nuisible de certains laits. Si, en effet, dans quelques cas, le lait contient des microbes virulents, ce fait est loin d'être la règle; le plus souvent il ne renferme que des saprophytes dénués d'action pathogène ; ceux-ci, surtout pendant la saison chaude, y pullulent très rapidement, et, ingérés en même temps que le lait, peuvent créer avec les germes intestinaux une symbiose active; l'infection intestinale peut se trouver ainsi réalisée. Par ce mécanisme s'expliqueraient peut-être les infections consécutives à l'emploi de laits stérilisés à 100° ; les spores en effet ne sont pas tuées à cette température et peuvent germer, si on n'utilise pas le lait immédiatement (1).

A côté des cas de symbiose microbienne, une place est peut-être à faire aux infections mixtes, dans lesquelles plusieurs agents microbiens agissent simultanément, unissant leurs efforts et imprimant à la maladie dès le début une allure spéciale, comme l'association du bacille typhique et du streptocoque (Vaillard et Vincent), du bacille diphtérique et du streptocoque (Grancher et Barbier). La fréquence des cas où l'on rencontre dans l'intestin plusieurs germes coexistant est en faveur d'une telle hypothèse. Récemment, M. Hutinel (2) a insisté sur le rôle que paraissaient devoir jouer pour lui ces infections mixtes dans la pathogénie de cer-

(1) Nous ne nous occupons pas ici de la question encore discutée du développementde produits toxiques dans le lait avant la stérilisation, produits auxquels M. Marfan attache une certaine importance.

(2) V. Hutinel. Entérocolites aiguës avec accidents graves chez les enfants (choléra sec). *Semaine médicale*, 1899, p. 25-30.

taines entérocolites aiguës graves (choléra sec). Dans son enseignement clinique, il montre leur importance dans la production des infections gastro-intestinales chroniques causes de beaucoup de cas d'athrepsie.

Enfin une part doit être réservée aux infections secondaires, où les microbes associés n'interviennent que tardivement au cours de la maladie primitive, comme agents de complications. L'étude des infections secondaires dans les infections gastro-intestinales est complexe. Nous ne nous occuperons pas ici des infections pulmonaires, cutanées, otiques, cérébrales, si fréquentes, qu'il s'agisse de microbes se greffant au niveau de la peau ou des muqueuses, ou plus rarement de microbes provenant du tube digestif et passant dans la circulation lymphatique et sanguine. Nous n'avons en vue que les infections secondaires se faisant dans la cavité même de l'intestin. Nous avons rapporté un exemple intéressant de ce mode d'association (1) chez un enfant de quatre mois et demi (*Observation IX*) entré dans le service du professeur Hutinel, pour une infection intestinale grave, avec diarrhée et hyperthermie. Au douzième jour, la température, qui s'était abaissée, remonte brusquement à 39°,9, en même temps que les selles prennent une coloration particulière, vert pistache, et que l'état général s'aggrave. La mort survient le lendemain. Dans les selles, nous isolons un colibacille et un bacille pyocyanique virulents, du proteus, du streptocoque. Le mélange, à doses convenables, du colibacille et du bacille pyocyanique était plus virulent pour le cobaye que chacun des germes séparément. Dans ce cas, bien qu'il soit difficile de conclure d'une façon absolue, puisqu'un premier examen des matières fécales n'avait pas été pratiqué, la coexistence d'une recrudescence des accidents et d'une modification de ces dernières (2) donnait bien à la maladie les allures d'une

(1) P. Nobécourt. *Loc. cit.*, 21 août 1898.

(2) Il est difficile d'attribuer d'une façon précise la coloration verte à la présence du B. pyocyanique dans les selles. La coloration verte, qui est si fréquente,

infection surajoutée. M. Lesage (1) a également insisté sur le rôle de ces infections secondaires dans la production de l'entérite cachectique.

On voit, d'après cet exposé, combien de questions intéressantes se rattachent aux associations microbiennes dans la pathogénie des infections gastro-intestinales. Mais le problème est complexe et difficile à résoudre. Cette flore microbienne variée n'est pas spéciale aux états pathologiques ; même variété peut exister chez des enfants normaux. La constatation seule de microbes multiples ne permet donc pas d'affirmer que leur groupement a un rôle pathogène. Dans l'intestin, comme dans les autres cavités naturelles, bien des espèces peuvent coexister, végéter côte à côte, s'influencer plus ou moins réciproquement, mais sans qu'il en résulte une action nuisible sur l'organisme, une association proprement dite. Il faut serrer la question de plus près, étudier comment réagissent l'une sur l'autre ces diverses espèces, rechercher si leur mélange peut constituer réellement une association active, pénétrer intimement dans les processus morbides que peut créer celle-ci. Ce n'est qu'après avoir élucidé ces questions, qu'on pourra essayer d'établir le rôle clinique de ces associations.

Pour retirer quelque profit d'un tel travail, il faut nécessairement le scinder, et faire un choix au milieu des nombreuses espèces microbiennes que l'on peut rencontrer dans l'intestin.

Nous avons choisi comme objet d'étude les colibacilles et les streptocoques, parce que ce sont les germes dont nous avons cons-

n'est en effet que très rarement le fait d'une bactérie chromogène ; elle est due aux pigments biliaires. Cependant dans ce cas la couleur n'était pas semblable à celle qu'on est accoutumé d'observer. Le bacille pyocyanique peut d'ailleurs exister dans l'intestin sans qu'il y ait de coloration spéciale des selles, comme nous avons pu le constater récemment dans un cas. Depuis notre travail sur les infections intestinales à B. pyocyanique, nous n'avons rencontré ce germe que dans ce cas, malgré de nombreux examens. Comme nous l'avions fait remarquer à ce moment, ces infections pyocyaniques restent donc rares. Blum en a rapporté un cas. (*Centralbl. für Bakter.*, XXV, 1899. p. 113.)

(1) Lesage. *Loc. cit.*, 18 nov. 1898.

taté le plus fréquemment la coexistence dans les différentes formes d'infections aiguës, subaiguës ou chroniques, d'accord en cela avec les différents auteurs. Dans les statistiques, déjà citées, de Greene-Cumston, de Lesage, dans le travail de W. Booker (1), dans les observations publiées récemment par Escherich, portant sur les infections aiguës, on peut noter le fait ; mais la plupart n'attachent pas d'importance à cette coexistence et attribuent le rôle important soit aux seuls colibacilles, soit aux seuls streptocoques. Dans les infections chroniques, ce sont également les colibacilles et les streptocoques qui dominent et la présence de ces derniers serait même, d'après Lesage (2), presque caractéristique de la chronicité.

Mais les colibacilles et les streptocoques ne se rencontrent pas qu'à l'état pathologique. L'un et l'autre sont des microbes normaux de l'intestin, et on les voit coexister fréquemment alors qu'il n'y a aucun symptôme d'infection gastro-intestinale. Dans les huit observations d'examens de selles normales, rapportées dans la première partie de ce travail, nous n'avons constaté qu'une fois l'absence de streptocoques ; dans les autres cas, ils existaient cinq fois en faible quantité, une fois en assez grande abondance, une fois en grand nombre. La simple constatation de ces deux microbes ne suffit donc pas à établir qu'il y a association active. Aussi l'étude de l'association strepto-colibacillaire nous permettra de soulever les différents problèmes que comporte l'étude des associations microbiennes en général dans les infections gastro-intestinales.

Avant de pénétrer dans le détail de nos recherches, il nous faut dire quelques mots des microbes que nous avons expérimentés. Les colibacilles ne présentent rien de spécial à signaler ; tantôt ils étaient sans action sur le cobaye, à la dose que nous avons indiquée ; tantôt ils étaient virulents à cette dose ; sous le rapport

(1) W. Booker. A bacteriological and anatomical study of the summer dirrahœas of infants. *John Hopkins Hospital Reports*, VI, 1896, p. 159, etc.

(2) Lesage. *Loc. cit. Traité de méd. des enfants*, p. 603.

des cultures, ils présentaient les variations, au sujet desquelles nous avons insisté dans la première partie de ce travail ; nous n'y reviendrons donc pas. Mais il faut nous arrêter plus longtemps sur les streptocoques. Ces streptocoques, qu'ils aient été isolés dans des selles normales ou diarrhéiques, se sont toujours présentés à notre observation avec des caractères analogues, à part quelques différences de détail. Dans les examens directs des matières fécales, après coloration par la méthode de Gram, ou mieux par la méthode d'Escherich, ils se présentent généralement sous forme de diplocoques, à grains arrondis, plus souvent un peu allongés, ovoïdes ou avec une extrémité plus ou moins amincie ; mais à côté on rencontre des chaînettes de 4, 6, 8 cocci, et des amas irréguliers plus ou moins volumineux. Sur les tubes de gélose ensemencés avec les fèces, alors que les colonies de streptocoques sont à côté de colonies de colibacilles, ces colonies sont souvent plus grosses et plus opaques que ne le sont habituellement les colonies de streptocoques. Mais repiquées sur gélose en culture pure, elles revêtent les caractères ordinaires : elles sont fines et transparentes. Il semble donc qu'il y ait pour le colibacille et le streptocoque un phénomène de satellitisme cultural analogue à celui observé par Metchnikoff pour le vibrion cholérique et les microbes favorisants, par H. Meunier (1) et Grassberger pour le bacille de Pfeiffer et le staphylocoque ; cependant le fait n'est pas constant, et une condition nécessaire, pour qu'il soit observé, est que les colonies soient peu serrées ; dans le cas contraire, en effet, les colonies de streptocoques sont fines et ne présentent rien de spécial. Ces streptocoques troublent le bouillon, sans dépôt ou seulement avec un dépôt tardif et peu abondant. Ils poussent généralement sur la gélatine à la température du laboratoire, et ne la liquéfient pas. Le lait tournesolé reste bleu ou bien vire au rouge, en même temps que la coagulation se produit ; il n'y a rien de fixe. Ces streptocoques poussent bien dans le milieu de Marmorek et parti-

(1) HENRI MEUNIER. Satellitisme des colonies du bacille de Pfeiffer dans les cultures mixtes. *Compt. rend. de la Soc. de biol.*, 11 juin 1898.

culièrement dans un mélange de deux parties de sérum de lait et d'une partie de bouillon. Dans ces divers milieux, et principalement dans les milieux liquides à côté de diplocoques, on trouve en nombre variable des chaînettes plus ou moins longues et la forme des cocci est variable comme dans les matières fécales. Une culture en bouillon de 24 heures inoculée sous la peau d'une souris blanche à la dose de 1 centim. cube est généralement inoffensive ; dans quelques cas rares l'animal meurt en trois ou quatre jours. Aux doses de un demi-centim. cube et même de 1 centim. cube l'inoculation sous la peau de l'oreille du lapin ne détermine aucun phénomène, ou seulement un peu de rougeur et de gonflement passagers, mais pas d'érysipèle.

Comme on le voit, les streptocoques, que nous avons isolés de l'intestin des jeunes enfants, ne présentent aucun caractère particulier constant et fixe, qui permette d'en faire un groupe à part dans la grande espèce des streptocoques. Ils ne se différencient pas sensiblement d'autres échantillons de streptocoques que nous avons isolés du lait, de la peau, de la gorge, ou d'appendices enlevés par M. Jalaguier. Nous pensons qu'ils ne doivent pas être isolés des autres streptocoques. N'ayant pas étudié les échantillons du *streptococcus enteritis* d'Escherich (1), de l'*entérocoque* de Thiercelin (2), nous ne saurions dire si ceux-ci diffèrent des nôtres.

Tels sont donc les caractères des colibacilles et des streptoco-

(1) Le *streptococcus enteritis* d'Escherich se présente sous forme d'éléments arrondis ou en lancette, groupés généralement en diplocoques, beaucoup plus rarement en chaînettes, pouvant compter jusqu'à 20 ou 30 éléments, rarement en amas comme les staphylocoques. Il est difficile à cultiver et sa vitalité dans les milieux de culture est très limitée ; c'est sur la gélatine qu'il se conserve le mieux. Ses caractères varient avec chaque cas. Sa virulence est très faible pour la souris blanche. — Par ses caractères, il se rapproche du pneumocoque et du méningocoque intra-cellulaire ; mais l'absence de capsule, la possibilité de donner de longues chaînettes, le peu d'action sur la souris blanche permettent de le ranger parmi les streptocoques. (ESCHERICH. *Loc. cit.*, 28 mars 1899.)

(2) THIERCELIN. Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogène. (*Comptes rend. de la Soc. de biol.*, 15 avril 1899.) Ce streptocoque présente, à peu de choses près, les mêmes caractères morphologiques que le streptocoque d'Escherich. Il est virulent pour la souris à la dose de 1 c. c.

ques, dont nous avons étudié l'association. Pour établir le rôle de cette association dans la pathogénie des infections gastro-intestinales, il convenait tout d'abord, suivant le plan que nous nous étions proposé, d'établir expérimentalement la réalité d'une association active de ces germes isolés de l'intestin. Avant nos recherches, quelques auteurs se sont occupés de l'association strepto-colibacillaire. F. Widal et F. Besançon (1) ont montré que l'association des streptocoques et des colibacilles de la bouche normale, les uns et les autres dépourvus de virulence, permet d'obtenir des races de streptocoques capables de produire chez le lapin l'érysipèle, la suppuration, la septicémie, l'endocardite végétante. Motta Coco (2), dans ses études sur la pathogénie d'une forme spéciale de fièvre intestinale, différente de la fièvre typhoïde et de la malaria, observée chez des soldats revenus d'Afrique, a constaté que l'injection dans l'estomac simultanément de colibacilles et de streptocoques ou de staphylocoques provoque chez les animaux un catarrhe gastro-intestinal intense que ne produit pas le colibacille seul. Mais ces observateurs ne se sont pas placés dans les mêmes conditions d'expérience que nous.

Les expériences, dont nous avons donné le résumé à la Société de biologie, le 28 janvier 1899, portaient sur 10 échantillons de colibacilles isolés dans des selles normales ou pathologiques et 15 échantillons de streptocoques ; 3 seulement de ces colibacilles tuaient, en moins de vingt-quatre heures, des cobayes d'un poids moyen de 300 grammes, à la dose de 1 centim. cube de culture en bouillon de dix-huit à vingt heures inoculée sous la peau ; les autres étaient sans action à cette dose. Parmi les 15 échantillons de streptocoques, 10 provenaient de l'intestin des mêmes enfants, 3 avaient été isolés du lait en usage à l'hospice des

() F. Widal et F. Besançon. Endocardite végétante expérimentale sans traumatisme valvulaire par streptocoque salivaire. *Soc. méd. hôp.*, 20 avril 1894. — F. Widal. Streptococcie. In *Tr. méd. et thérap. de Brouardel, Gilbert et Girode* I, avril 1895, p. 315.

(2) Motta Coco. Il coli bacillo ed i cocchi piogeni nell' etiologia delle febri intestinali ; ricerche sperimentali. *Gazz. degli Ospidale*, 23 janvier 1898.

Enfants-Assistés, 1 provenait d'une bulbe de pemphigus et 1 d'une angine; tous étaient sans action sur le cobaye en inoculation sous-cutanée à la dose de 2 centim. cubes de culture en bouillon. En mélangeant les cultures de ces deux microbes dans des proportions convenables, nous avons vu que le mélange était plus actif que chacun des microbes pris à part, qu'il tuait les cobayes à des doses inférieures aux doses mortelles pour chacun d'eux. Sur 20 groupements différents obtenus en variant les combinaisons, nous avons obtenu 15 fois des résultats positifs. Les quantités de chacun des microbes mis en présence étaient d'ailleurs variables. Avec les colibacilles non virulents à 1 centim. cube, il a fallu, pour amener la mort rapide des cobayes, associer tantôt un demi-centim. cube (5 fois), tantôt 1 centim. cube (8 fois) à 1 centim. cube ou à 2 centim. cubes de streptocoques ; avec les colibacilles virulents à 1 centim. cube, la dose de colibacilles nécessaire, pour tuer par association avec les mêmes quantités de streptocoques, a été de 1 demi-centim. cube. Dans 5 cas, l'association a été inactive, même aux doses maxima, que nous avons indiquées.

Poursuivant nos recherches, nous avons étudié l'association de 10 nouveaux échantillons de colibacilles et de streptocoques de l'intestin. Sur ces 10 expériences, nous avons obtenu 6 fois des résultats positifs, 4 fois des résultats négatifs. Dans un des cas positifs, le colibacille, qui était sans action à la dose de 1 centim. cube, tuait, associé à 1 centim. cube de streptocoques, à la dose de un quart de centim. cube un cobaye de 290 grammes. Dans les 5 autres cas positifs, où les colibacilles étaient également dépourvus de virulence, 3 fois les doses nécessaires ont été de 1 centim. cube de colibacilles et de 1 centim. cube de streptocoques ; 2 fois, un demi-centim. cube de colibacilles et 1 ou 2 centim. cubes de streptocoques.

Ce qui frappe tout d'abord dans l'étude de ces faits, c'est que l'association strepto-colibacillaire n'est pas toujours active. Ces différences dans les résultats paraissent tenir pour une part aux échantillons associés. Si, en effet, on associe un colibacille donné successivement à divers streptocoques, on a, d'une façon générale, suivant

les cas, toute une série de faits positifs, ou toute une série de faits négatifs, à part quelques exceptions inévitables; il en est de même, si, inversement, on associe à un même streptocoque divers colibacilles. Il semble donc que certains de ces microbes soient plus aptes à donner des associations actives, et d'autres, des associations négatives.

Un autre fait intéressant se dégage de ces expériences quand on recherche de quelle manière est mort le cobaye. Si on examine à plusieurs reprises l'œdème développé au point d'inoculation, on constate que les colibacilles, d'abord en moins grand nombre que les streptocoques, augmentent et finissent par prédominer, tandis que, inversement, les streptocoques finissent par disparaître. D'autre part, si on ensemence une goutte de sang du cœur, à l'autopsie, sur deux ou trois tubes de gélose, en dilutions successives, de façon à avoir des colonies isolées, on ne constate la plupart du temps que des colibacilles en culture pure; rarement il y a en outre quelques colonies de streptocoques, mais toujours en petit nombre. Le colibacille est donc le seul à se généraliser; le streptocoque n'a qu'une action locale, passagère, de présence. L'animal meurt de colibacillose et non pas de strepto-colibacillose, d'infection mixte. Il semble qu'il y ait là un fait de symbiose microbienne, analogue aux faits signalés par Vaillard, Rouget, Vincent, pour le tétanos, par Besson pour le vibrion septique. Le streptocoque, par sa présence, permet la pullulation locale du colibacille, qui sans cela serait détruit; il disparaît d'ailleurs, semblant attirer à lui seul toute l'activité de la défense organique: le colibacille, une fois qu'il est en quantité suffisante, infecte alors l'organisme. D'ailleurs ce qui est encore en faveur de ce mécanisme, c'est que, sauf de rares exceptions, nous n'avons pas constaté une augmentation notable de virulence du colibacille ainsi isolé du sang du cœur, ni même en inoculant en série un colibacille associé à des streptocoques. Une autre preuve en sa faveur est la nécessité d'inoculer les cultures mélangées; les mêmes doses, pathogènes dans ce cas, cessent de l'être, si on les inocule en des points séparés, ce qui

montre bien de plus que les doses assez fortes, dont l'emploi est nécessaire, n'agissent pas par leur masse, mais par l'activité propre des microbes.

Cette modalité de l'infection chez le cobaye semble tenir à l'animal lui-même, qui est très résistant à l'infection streptococcique. Il ne paraît pas en être de même, si on expérimente sur le lapin, animal beaucoup plus sensible au streptocoque. Comme Widal et Bezançon l'ont vu, la même association strepto-colibacillaire détermine chez lui une exaltation de la virulence du streptocoque, avec lequel on peut obtenir l'érysipèle. Nous avons fait d'ailleurs la même constatation, dans quelques cas où nous avons expérimenté comparativement chez le lapin et le cobaye ; mais les résultats obtenus par nous ont été moins nets chez le premier animal que chez le second. Il ne semble pas d'ailleurs y avoir toujours coïncidence entre l'activité du mélange pour les deux espèces animales ; on peut voir des associations pathogènes pour l'une sans action sur l'autre. Il y aurait là sans doute matière à recherches intéressantes.

Nous avons donc établi que l'association des streptocoques et des colibacilles isolés des selles des jeunes enfants était active pour le cobaye. Nous avons vu, d'autre part, que les résultats expérimentaux différaient dans une certaine mesure suivant les échantillons. Tantôt l'activité du mélange est très grande, tantôt elle est moyenne, tantôt enfin elle est nulle. Il fallait se demander, si ces différences étaient en rapport avec l'origine de ces microbes, avec l'état de l'intestin, dont ils avaient été isolés. Si, en effet, un mélange actif pour le cobaye correspondait à un état d'infection gastro-intestinale et au contraire un mélange inactif à l'état normal, il y avait dans cette étude un criterium important pour établir le rôle de l'association strepto-colibacillaire dans chaque cas donné. Nous avons donc réuni dans ce but des observations d'enfants normaux et d'enfants atteints d'infections gastro-intestinales aiguës ou chroniques.

I. — Associations dans les selles normales.

Nous avons étudié sous ce rapport les observations II, III, VII, VIII, dans lesquelles les colibacilles étaient sans action sur le cobaye à la dose de 1 centim. cube, et les streptocoques étaient rares (II, III, VIII) ou assez abondants (VII).

Dans l'observation II, le mélange de 1 centim. cube du colibacille et de 2 centim. cubes du streptocoque est sans action sur le cobaye.

Dans l'observation III, le mélange de 1 centim. cube du colibacille et de 2 centim. cubes du streptocoque est virulent.

Dans l'observation VII, le mélange à parties égales de 1 centim. cube du colibacille et du streptocoque tue rapidement un cobaye de 310 gr. : 1 centim. cube du streptocoque et un demi-centim. cube du colibacille tue en deux jours un cobaye du même poids.

Dans l'observation VIII, le mélange de un demi-centim. cube du colibacille et de 1 centim. cube du streptocoque est actif.

II. — Associations dans les infections aiguës et subaiguës.

Nous avons d'abord étudié les associations dans les observations XVII, XVIII, où les colibacilles étaient virulents à la dose de 1 centim. cube, et XXV et XXVI, où les colibacilles étaient sans action à cette dose. Dans l'observation XVII les streptocoques étaient abondants ; dans les autres ils étaient seulement en assez grande abondance.

Dans l'observation XVII, le mélange de un demi-centim. cube du colibacille et de 1 centim. cube du streptocoque était virulent pour un cobaye de 330 gr.; 1 centim. cube du streptocoque et un quart de centim. cube du colibacille étaient sans action pour un cobaye de 190 grammes.

Dans l'observation XVIII, le mélange actif était de un demi-centim. cube du colibacille et de 2 centim. cubes du streptocoque pour un cobaye de 350 gr. : le mélange de 1 centim. cube du streptocoque et de un demi-centimètre cube du colibacille tuait seulement en douze jours un cobaye de 340 grammes.

Dans l'observation XXV, le mélange de un demi-centim. cube du colibacille et de 1 centim. cube du streptocoque était pathogène.

Dans l'observation XXVI, le mélange de 1 centim. cube du colibacille et de 2 centim. cubes du streptocoque est sans action.

Nous avons encore étudié les observations suivantes.

Observation XXIX. — Arch..., âgé de 23 mois, présente, le 1er février 1899, un érythème morbilliforme (1), sans fièvre, mais ses selles sont très liquides et d'une grande fétidité. On en isole un colibacille, dont 1 centim. cube ne tue pas le cobaye et un streptocoque peu abondant, dont la même dose ne provoque pas l'érysipèle de l'oreille chez le lapin. L'association de 1 centim. cube du colibacille et de 2 centim. cubes du streptocoque est sans action chez le cobaye.

Observation XXX. — Boyer..., âgé de 5 ans, entre le 2 février 1899 avec de l'urticaire des membres inférieurs, des avant-bras et de la face. Ses selles sont en même temps liquides et fétides. Elles renferment un colibacille non virulent à la dose de 1 centim. cube et un streptocoque abondant qui, à la dose de 1 centim. cube, provoque l'érysipèle de l'oreille du lapin. L'association de un demi-centim cube du colibacille et de 1 centim. cube du streptocoque tue le cobaye.

III. — **Associations chez les athrepsiques. (Infections intestinales chroniques.)**

Observation XXXI. — Charlotte Aub..., née le 30 avril 1898, entre à la Nourricerie le 25 décembre, pesant 2,380 grammes, suspecte de syphilis (non confirmée à l'autopsie). A l'entrée, les selles renferment deux colibacilles non virulents, et un streptocoque peu abondant, dont 1 centim. cube ne donne pas d'érysipèle à l'oreille du lapin. Le mélange d'un des colibacilles et du streptocoque, aux doses de 1 centim. cube de chaque,

(1) La relation de ces érythèmes avec des états d'infection gastro-intestinale est fréquente, et M. Hutinel y insiste. Au point de vue clinique la connaissance de ces érythèmes est très importante. Cet enfant, au moment où nous l'observions, était suspect de rougeole, ayant été en contact avec un morbilleux. Cependant il ne s'agissait pas de rougeole, mais d'un érythème morbilliforme. Ce qui le prouve, en plus des caractères de l'éruption, c'est qu'il a eu, cinq semaines après environ, une rougeole des plus caractéristiques. Nous rapportons encore d'autres observations d'érythèmes liés à un état infectieux du tube digestif, nous réservant de revenir sur leur pathogénie dans un travail spécial.

tue le cobaye en moins de 24 heures : celui de un demi centim. cube du colibacille et de 1 centim. cube du streptocoque le tue en deux jours. Un mélange de un demi-centim. cube de chaque donnait de l'érysipèle au lapin.

L'enfant meurt cinq jours après son entrée, avec de la diarrhée et de la thrombose de la veine rénale gauche.

Observation XXXII. — Élise Arson..., née le 25 août 1898, entre à la Nourricerie le 6 janvier 1899, pesant 2,550 gr. De ses selles normales, on isole un colibacille et un streptocoque assez abondant, l'un et l'autre non virulents. Le mélange de 1 centim. cube du colibacille et de 2 centim. cubes du streptocoque tue rapidement le cobaye ; le mélange de 1 centim. cube de chacun n'a guère d'action sur l'oreille du lapin. Six jours après, diarrhée et fièvre (38°,3). Le colibacille et le streptocoque isolés sont toujours sans action, mais l'association strepto-colibacillaire paraît plus active : 1 centim. cube de chaque tue le cobaye en 5 jours (la première fois l'animal avait survécu avec ces doses), et donne un érysipèle très net au lapin.

L'enfant meurt sept jours après, avec de la diarrhée. Dans l'intestin grêle, outre le colibacille, cette fois virulent à un demi-centim. cube, et le streptocoque, on isole un proteus virulent à 1 centim. cube ; le mélange de un quart de centim. cube de colibacille et de un demi-centim. cube de proteus est actif.

Observation XXXIII. — Michel Dartil..., né le 29 décembre 1898, entre à la Nourricerie le 9 janvier 1899, pesant 2,540 gr. Coryza. Fissures des lèvres et de l'anus. Pas de fièvre.

Le 11 janvier, des selles fermes, blanchâtres, on isole un colibacille non virulent, un streptocoque, dont 1 centim. cube est sans action sur l'oreille du lapin, et un proteus, dont 1 centim. cube ne tue pas un cobaye de 320 gr., ces deux derniers microbes peu abondants. Le mélange de 1 centim. cube du colibacille et 2 centim. cubes du streptocoque est sans action sur un cobaye de 335 grammes.

L'enfant meurt le 21 janvier. Syphilis hépatique, broncho-pneumonie double.

Observation XXXIV. — Henri Ven..., né le 2 janvier 1899, entré à la Nourricerie le 22 janvier, pesant 3,110 gr., suspect de syphilis héréditaire.

Des selles mélangées vertes et jaunes, on isole un colibacille A, virulent à 1 centim. cube, un colibacille B non virulent, un streptocoque peu abondant et un proteus sans action pathogène.

L'association de un quart de centim. cube du colibacille A et 1 centim.

cube du streptocoque est active. L'association du proteus (1 centim. cube) et du colibacille A (un-demi centimètre cube) du streptocoque (1 centim. cube) et du proteus (1 centim. cube), est sans action.

Les jours suivants, diarrhée et fièvre. Mort après huit jours avec thrombose de la veine rénale gauche.

Observation XXXV. — Couru..., né le 8 janvier 1899, entre à la Nourricerie le 30 janvier, pesant 2,750 gr., suspect de syphilis héréditaire.

Dans les selles normales, colibacille A. virulent à 1 centim. cube, colibacille B et streptocoque abondant non virulents. Le mélange de 1 centim. cube du colibacille A et du streptocoque tue le cobaye.

Le 9 février, on isole des selles quelques streptocoques, un proteus et un colibacille non virulents. Association protéo-colibacillaire (1 centim. cube de chaque) inactive.

Mort le 10 février avec thrombose de la veine rénale droite.

En examinant les observations que nous venons de citer, au point de vue des rapports qui existent entre les formes cliniques et la virulence de l'association strepto-colibacillaire pour le cobaye, nous obtenons les résultats suivants :

Dans les selles normales, l'association était active 2 fois sur 4, c'est-à-dire, dans la moitié des cas.

Dans les infections aiguës, l'association était pathogène, 4 fois sur 6, c'est-à-dire, dans deux tiers des cas.

Dans les infections chroniques, ou tout au moins dans les états cachectiques, attribuables à une infection gastro-intestinale chronique, l'association était active 4 fois sur 5, c'est-à-dire, dans les quatre cinquièmes des cas.

De cette fréquence de l'association strepto-colibacillaire active pour le cobaye plus grande dans les états infectieux qu'à l'état normal, peut-on conclure au rôle pathogène de l'association dans ces cas? La virulence de cette association tient-elle à des qualités spéciales des germes mis en présence et peut-elle servir de critérium pour établir qu'elle a joué un rôle? Nous ne le croyons pas. Puisque la même constatation a été faite, quoique plus rarement, dans l'état normal, il s'ensuit qu'elle ne peut servir à caractériser l'état infectieux. L'admettre serait s'exposer aux mêmes critiques, que nous

avons formulées quand nous avons discuté la valeur de la virulence comme indice du rôle du colibacille. Ce résultat négatif était d'ailleurs facile à prévoir. Dans nos expériences, les doses réciproques des germes mis en présence ont une très grande importance. Or, en étudiant les selles de nos malades, d'après ce mode expérimental, nous ne tenions nécessairement aucun compte de la proportion des microbes qui s'y trouvaient.

La proportion relative des colibacilles et des streptocoques dans les matières fécales semble être en effet le seul critérium, sur lequel on puisse se fonder pour établir l'existence d'une infection par association strepto-colibacillaire. Cette proportion peut présenter tous les degrès. A la limite, on peut trouver des cas où les colibacilles prédominent, et où il existe seulement quelques rares streptocoques, et d'autres cas au contraire où ce sont les streptocoques qui existent presque à l'état de culture pure, ayant pour ainsi dire chassé les colibacilles : alors il ne serait pas exact de conclure à l'existence d'une association, et l'on peut admettre qu'il s'agit d'une infection colibacillaire ou streptococcique. Mais entre ces extrêmes, on peut trouver les deux germes coexistant en quantité variable, et quelquefois en nombre à peu près égal ; alors on peut, à bon droit, incriminer une association strepto-colibacillaire. Cependant il n'y a pas là une caractéristique absolue de l'état infectieux. Dans des selles normales, on peut constater les mêmes variations, quoique cependant les streptocoques y soient généralement en petit nombre ; mais, pour pouvoir arriver à une conclusion ferme, il faudrait faire des examens répétés chez un même enfant et voir, si ce nombre relativement grand de streptocoques ne s'accompagnera pas ultérieurement du développement d'une infection. En tous cas c'est la constatation d'un état infectieux d'une part et des microbes dans les selles d'autre part, qui permet de remonter de l'effet à la cause. Le bactériologiste, qui n'aurait pas de renseignements cliniques, ne pourrait pas conclure de ses seules recherches à l'existence d'une infection strepto-colibacillaire, pas plus qu'il ne pourrait conclure, comme nous l'avons

vu, à l'existence d'une infection colibacillaire, même s'il trouvait à l'état de culture pure, du colibacille virulent dans les selles.

Cette difficulté de diagnostic bactériologique n'est pas spéciale à l'intestin. Elle existe également pour toutes les autres infections et en particulier pour la diphtérie. On sait à combien de discussions a donné lieu le diagnostic de l'association du Bacille de Lœffler et du streptocoque. Les expériences de Roux et Yersin ont montré le rôle expérimental de cette association ; cliniquement sa gravité n'est plus discutée. Mais le point en litige est de savoir quand, bactériologiquement, on peut dire qu'il y a association. Les streptocoques, que l'on rencontre en même temps que le bacille de Lœffler, sont des hôtes habituels des cavités buccale et pharyngée et on les trouve dans tous les ensemencements. Constater leur présence ne veut pas dire qu'il y ait association. On a cherché à établir un critérium, sans en trouver encore un de valeur absolue. La présence des streptocoques dans les cultures sur gélose est constante ; s'ils sont abondants sur sérum, leur constatation a plus de valeur ; mais il n'y a là rien de pathognomonique, non plus que dans la virulence, qui peut exister en dehors de tout état pathologique. Cependant, dans la diphtérie, la recherche est facilitée par l'existence de la fausse membrane et la présence d'un agent spécial caractérisant la maladie, le Bacille de Lœffler. Si on y trouve, en plus du bacille, qui existe seul dans les diphtéries simples, du streptocoque en grande abondance, il y a là un fait qui peut par lui-même caractériser l'association (Méry) (1). Dans les infections gastro-intestinales cette base manque, et on est réduit à tout faire graviter autour de germes saprophytes, hôtes habituels de l'intestin, sans qu'il y ait de caractéristique anatomique.

D'ailleurs il n'est pas certain que les constatations faites dans les fèces soient l'image exacte de ce qui se passe dans l'intestin lui-même. Il est possible que les conclusions qu'on en tire soient faussées de

(1) MÉRY. Des associations microbiennes dans la diphtérie. *Congrès de Pédiatrie*, Marseille ; octobre 1898.

ce fait que la teneur en germes n'est pas la même dans les différents points de l'intestin. Les observations suivantes en sont la preuve. Dans l'une (obs. XXXVI), on voit que, dans la première portion de l'intestin grêle, il n'y avait que du colibacille, dans la dernière portion, des colibacilles et des streptocoques en quantité à peu près égale, et dans le rectum des colibacilles plus nombreux que les streptocoques. Dans l'autre (obs. XXXVII), colibacilles et streptocoques sont en quantité à peu près égale dans la première partie de l'intestin grêle, puis les premiers prédominent sur les seconds dans la dernière portion et surtout dans le gros intestin.

Observation XXXVI. — Silberb..., né le 1er octobre 1898, entre en médecine le 19 mars 1899. Enfant suspect de syphilis héréditaire ; coryza, érythème des fesses. Poids, 4,300 gr. Diarrhée, fièvre (38°,6).

Les jours suivants, la diarrhée persiste, mais la température tombe. Le 26 mars, la température s'élève de nouveau, et la diarrhée augmente. Le 1er avril, la température s'élève à 41° et on constate des signes de broncho-pneumonie. L'enfant meurt le 3 avril, à 1 heure du matin.

A l'*autopsie*, faite le même jour à 11 h. du matin, on constate la broncho-pneumonie. Peu d'altérations du tube digestif, comme il est habituel en pareil cas.

Examen bactériologique du contenu de l'intestin. — (Coloration par la méthode d'Escherich, cultures en dilutions successives sur trois tubes de gélose).

I. — *Intestin grêle* (à 5-6 centim. du pylore). — Sur lamelles uniquement bacilles colorés en rouge par la fuchsine ; pas de streptocoques. Sur gélose, culture pure de colibacilles; 1 centim. cube de culture en bouillon de 24 heures de ce colibacille est sans action sur un cobaye de 315 grammes.

II. — *Intestin grêle* (un peu au-dessus de la valvule iléo-cæcale). — Bacilles colorés en rouge assez nombreux. Quelques gros bâtonnets, nombreux diplocoques et streptocoques courts, colorés en violet. Sur gélose, colonies de streptocoques et de colibacilles en nombre à peu près égal ; 1 centim. cube du colibacille est sans action sur un cobaye de 320 grammes.

III. — *Rectum.* — Bacilles rouges plus nombreux proportionnellement que les streptocoques, sur lamelles et sur cultures. 1 centim. cube du colibacille tue rapidement un cobaye de 320 gr ; un demi centim. cube est sans action sur un cobaye de 315 grammes.

Observation XXXVII. — Paul Pouill..., né le 23 mars 1899, entre en médecine le 12 avril. Poids, 3,750 gr. Enfant suspect de syphilis héréditaire. Vomissements. Diarrhée jaune. T. 37°,4.

La diarrhée persiste. Puis, le 16 avril, la température s'élève et atteint 38°8, le 17 avril, puis s'abaisse à nouveau.

Le 17 avril, T. 37°6, diarrhée très abondante. Érythème en larges placards de la face, de l'abdomen, des fesses, des coudes. Mort le soir dans l'hypothermie.

Dans les selles, le 17 avril, on constate des colibacilles et des streptocoques en nombre à peu près égal. 1 centim. cube du colibacille tue, en quatre jours, un cobaye de 320 gr. ; la même dose de streptocoques est sans action sur la souris blanche ; un demi-centim. cube ne donne qu'un peu de rougeur et de gonflement à l'oreille du lapin, mais pas d'érysipèle.

A l'*autopsie*, le sang du cœur, le liquide péricardique, le liquide céphalo-rachidien sont stériles.

Dans l'intestin on constate :

I. — *Intestin grêle* (à 10 centim. du pylore). — Bacilles et streptocoques en nombre à peu près égal. 1 centim. cube de culture en bouillon du colibacille tue un cobaye de 290 gr. ; un demi centim. cube est sans action sur un cobaye de 300 gr.

II. — *Intestin grêle* (au-dessus de la valvule iléo-cæcale). — Bacilles plus abondants que les streptocoques, qui sont cependant en assez grand nombre. Colibacille non-virulent.

III. — *Côlon descendant.* — Bacilles prédominent d'une façon très notable sur les streptocoques, qui sont d'ailleurs beaucoup moins abondants que dans les portions précédentes. Colibacille non virulent.

Ces remarques ont leur importance. Elles nous montrent la complexité de l'étude de la bactériologie des infections gastro-intestinales; elles font voir, qu'avec les méthodes usuelles, il est difficile d'arriver à des conclusions rigoureuses. Devons nous conclure pour cela que l'association strepto-colibacillaire ne joue aucun rôle dans la pathogénie de ces infections ? Ce serait évidemment aller trop loin ? D'une part, l'expérimentation montre l'importance de cette association ; d'autre part, les examens des matières fécales décèlent la coexistence fréquente de ces germes en proportions notables. Il est donc légitime de lui attribuer un rôle pathologique, malgré l'absence de preuve absolue. De même, que nous n'avons pas nié pour ce motif le rôle possible du colibacille, là

où seul il peut être incriminé, de même, nous ne pouvons refuser un rôle à l'association des colibacilles et des streptocoques, dans les cas où il n'y a pas de raison d'incriminer l'un plus que l'autre. Il ne faut pas en tout cas, après avoir fait trop grande la part du colibacille, vouloir trop la restreindre en faveur du streptocoque.

L'association strepto-colibacillaire peut jouer un rôle dans toutes les variétés d'infections gastro-intestinales aiguës, subaiguës, chroniques. Elle peut être réalisée de plusieurs façons. Dans certains cas, ce sont les streptocoques saprophytes de l'intestin, habituellement en petit nombre, qui pullulent sous des influences encore mal déterminées et arrivent à un moment donné à être en proportion convenable pour que l'association soit réalisée. Parmi les causes, qui peuvent déterminer une telle pullulation des streptocoques, il faut citer les maladies générales et en particulier la rougeole et la grippe. Au cours de ces maladies, on observe cette pullulation du côté de la gorge, d'où ils peuvent gagner l'oreille moyenne; on l'observe également dans l'intestin, comme le montre notre observation X (1). Dans d'autres cas, des streptocoques peuvent être apportés dans l'intestin en plus ou moins grand nombre, soit qu'ils se trouvent dans le lait, soit qu'ils proviennent de la bouche de l'enfant. Il n'est pas rare, en effet, de constater la présence de streptocoques dans le lait, qu'ils proviennent d'une contamination à l'extérieur ou du pis des vaches. Escherich y a signalé son streptococcus enteritis ; nous-même en avons trouvé en culture pure dans un certain nombre d'échantillons après stérilisation à l'appareil Soxhlet, sans que nous puissions en donner le motif. D'autre part, le streptocoque est un hôte constant de la bouche, où il peut pulluler sous des influences diverses. Cet apport de streptocoques, s'ils sont abondants et virulents, pourra

(1) Par ce même mécanisme s'expliquerait également la pathogénie de ces appendicites survenant au cours et au déclin de certaines infections générales et en particulier de la grippe. On a noté, en effet, fréquemment la coexistence des colibacilles et des streptocoques dans les appendicites aiguës. Nous avons fait la même constatation dans le contenu de quelques appendices enlevés par M. Jalaguier.

déterminer une infection streptococcique, et s'ils sont en médiocre abondance, pourra réaliser avec les colibacilles de l'intestin l'association strepto-colibacillaire.

Cette association peut d'ailleurs revêtir, quelles que soient les conditions qui la créent, des allures variables. Tantôt ce sera une infection mixte proprement dite, streptocoques et colibacilles agissant en commun pendant toute la durée de la maladie. Tantôt il s'agira de faits de symbiose microbienne, analogues à ceux constatés expérimentalement. Les streptocoques, par leur présence, peuvent faciliter le développement des colibacilles, leur permettre de pulluler et de devenir pathogènes, puis ce rôle accompli, ils peuvent disparaître comme nous l'avons vu chez le cobaye. L'inverse peut se produire, les colibacilles facilitant le développement des streptocoques, comme on le constate chez le lapin. On peut concevoir que, suivant la nature du milieu intestinal, le terrain dans son acception la plus large, les conditions réalisées par des espèces animales différentes puissent exister chez les enfants. Si bien que certaines infections colibacillaires ou streptococciques en apparence, d'après l'examen des matières fécales, pourraient être le fait de la symbiose de ces deux microbes ; les exemples, que nous avons rapportés, de la diminution des streptocoques et de l'augmentation des colibacilles dans les parties inférieures de l'intestin appuient cette hypothèse. Évidemment ce n'est qu'une hypothèse, mais on est en droit de la poser, puisque les constatations qu'il est permis de faire ne satisfont pas l'esprit, et qu'il est nécessaire d'orienter ses recherches dans un autre sens.

Les streptocoques nous paraissent donc jouer dans l'association strepto-colibacillaire et dans les infections gastro-intestinales déterminées par elles un rôle primordial. Évidemment, il y a des cas où ils n'interviennent que secondairement, venant compliquer une infection intestinale réalisée par le colibacille, ou tout autre germe. Mais le grand nombre des cas, où on les constate dans l'intestin dès le premier examen, même chez des nouveau-nés

âgés de 5, 10, 11 jours (obs. VI, VII, VIII), montre combien il faut être réservé pour attribuer sa présence à une infection secondaire.

La possibilité d'une association strepto-colibacillaire active, réalisée par les colibacilles de l'intestin et les streptocoques du lait nous est prouvée par les faits. En étudiant des échantillons de lait stérilisé au Soxhlet, nous avons isolé trois fois, au mois d'août 1898 (1er, 4 et 13 août), des streptocoques en culture pure, qui ne tuaient pas la souris blanche à la dose de 1 centim. cube. Ces laits ne présentaient guère d'altération et auraient très bien pu être ingérés sans attirer l'attention En associant ces streptocoques avec des colibacilles intestinaux nous avons constaté ce qui suit :

Expérience XIV. — *Streptocoque isolé du lait le 1er août.* — A. — Le mélange de 1 centim. cube de streptocoque et d'un demi-centim. cube de colibacille XXV non virulent à la dose d'un demi-centim. cube tue rapidement un cobaye de 250 grammes. Les mêmes doses, inoculées séparément, sont sans action sur un cobaye de 230 grammes, de même que le mélange de 1 centim. cube de streptocoque et de un quart de centim. cube de colibacille pour un cobaye de 240 grammes et de un demi-centim. cube de chaque microbe pour un cobaye de 210 grammes.

B. — L'association du même streptocoque et du colibacille XXIII non virulent à 1 centim. cube, dans les proportions de 1 centim. cube et de un demi-centim. cube, tue rapidement un cobaye de 230 gr. Le mélange de un demi-centim. cube de chaque est sans action sur un cobaye du même poids.

Expérience XV. — *Streptocoque isolé du lait le 4 août.* — A. — Le mélange de 1 centim. cube du streptocoque et de 1 centim. cube du colibacille XXV tue rapidement un cobaye de 300 grammes avec culture pure de colibacilles dans le sang. La même dose du streptocoque associée à un demi-centim. cube du colibacille, 2 centim. cubes du streptocoque et un demi-centim. cube du colibacille sont sans action sur des cobayes de 320 gr. et 280 gr.

B. — Le mélange de 2 centim. cubes du streptocoque et 1 centim. cube du colibacille XXIII tue rapidement un cobaye de 300 gr.; 1 centim. cube de chaque microbe est sans action sur un cobaye du même poids.

Expérience XVI. — *Streptocoque isolé du lait le 13 août.* — 1 centim. cube du streptocoque et 1 centim. cube du colibacille XXV tuent rapidement un cobaye de 300 grammes avec colibacilles seuls dans le sang du cœur. 1 centim. cube du streptocoque et un demi-centim. cube du colibacille sont sans action sur un cobaye de 260 grammes ; la même dose de colibacille et 2 centim. cubes du streptocoque tuent rapidement un cobaye de 310 grammes avec colibacille pur dans le sang du cœur ; 2 centim. cubes du streptocoque et 1 centim cube du colibacille inoculés en deux points séparés, ne tuent pas un cobaye de 340 grammes.

Quant à la réalité de la pénétration dans l'intestin des streptocoques venus de la cavité bucco-naso-pharyngée, elle nous est montrée par l'observation suivante. Bien qu'il s'agisse d'un enfant déjà grand, nous la rapportons ici à cause de l'intérêt qu'elle comporte.

Observation XXXVIII (recueillie avec M. Bertherand). — Eugénie Anth.. née le 29 décembre 1889, entre en médecine le 22 décembre 1898. Pas de fièvre, mais douleurs dans le ventre, diarrhée légère, abattement, un peu d'albuminurie.

24 décembre, angine rouge, coryza, érythème des membres, surtout des membres inférieurs.

Le 25 la temp. s'élève à 39°,6 ; pouls fréquent, un peu arythmique ; abattement persiste. L'ensemencement de la gorge a donné une culture à peu près pure de streptocoques.

Le 28. Persistance de l'érythème sur les membres : une large plaque érythémateuse est apparue sur le menton. La fievre est tombée. L'abattement persiste ; le ventre est rétracté en bateau ; gargouillement dans la fosse iliaque. On pense à une fièvre typhoïde, mais la rate n'est pas tuméfiée. et le séro-diagnostic est négatif. Pas d'albumine. Les selles ne contiennent que du colibacille à l'état de culture pure.

4 janvier. Desquamation au niveau de l'érythème ancien. On constate de nouveaux placards d'érythème sur les membres supérieurs. Les symptômes généraux, qui s'étaient amendés, reparaissent de nouveau. La temp. s'est élevée hier à 39°,8. La gorge est un peu rouge. Mais les selles sont très fétides et contiennent quelques glaires. On y constate la présence de colibacilles tuant un cobaye de 370 grammes à la

dose de 1/2 centim. cube et des streptocoques en médiocre abondance, dont 1 centim. cube est sans action sur l'oreille du lapin.

Le 6. La fièvre est tombée, l'érythème s'étend. Otite gauche ; dans le pus culture presque pure de streptocoques. Selles toujours liquides et fétides.

Le 8. L'enfant est emmenée par les parents.

Un peu d'albumine dans l'urine.

Pour donner à nos expériences une portée plus grande, il aurait fallu obtenir des résultats analogues en inoculant les cultures associées, non plus par la voie sous-cutanée, mais par la voie gastrique. Les conditions d'infection changent en effet d'une façon notable suivant la porte d'entrée ; rien ne permet d'affirmer que les faits se passent de même, quand on introduit les microbes directement dans l'intimité des tissus en inoculation sous-cutanée, ou quand on les introduit dans le tube digestif. Suivant la voie choisie, l'effort des agents infectants est plus ou moins facilité et la défense de l'organisme nécessite la mise en jeu de processus plus ou moins compliqués et actifs. Nous avons commencé des expériences dans ce sens, mais elles sont encore trop peu nombreuses pour être concluantes.

Expérience XVII. — 5 séries de 3 cobayes de 50 à 300 grammes, de même poids pour chaque série, ingèrent ou du colibacille, ou du streptocoque, ou un mélange des deux. Une seule série donne des résultats positifs. Des 3 cobayes de 300 grammes, qui avaient ingéré, en 5 jours, 2 centim. cubes de culture du colibacille ou du streptocoque, ou d'un mélange à parties égales des deux microbes, ingestion suivie de l'injection intra-péritonéale de 0 gr. 75 de laudanum, le dernier seul mourut, avec de la diarrhée, de la congestion de l'estomac, de l'intestin, des reins, des capsules surrénales, des poumons ; dans l'intestin grêle, on isola, par les cultures, des colibacilles et quelques rares streptocoques ; dans le sang du cœur, il n'y avait que des colibacilles.

En se servant de tout jeunes animaux, les résultats sont plus nets. Sur cinq séries d'expériences, faites en se plaçant dans ces conditions, nous avons obtenu deux fois des résultats favorables.

Expérience XVIII. — 10 mars 1899. Quatre petits chats de trois semaines, de la même portée, sont séparés de la mère et alimentés avec du lait stérilisé. On leur fait ingérer en outre :

Au chat 1...	340	grammes	: streptocoque et colibacille ãã ;
— 2...	320	—	: streptocoque ;
— 3...	330	—	: colibacille ;
— 4...	300	—	: bouillon simple (témoin).

25 mars. Le chat 1, après avoir ingéré environ 5 centim. cubes ãã de streptocoque et de colibacille en cinq doses, meurt. Son poids est tombé à 260 grammes (perte de 80 grammes).

Les chats 2 et 3, qui ont reçu respectivement 5 centim. cubes de streptocoque et de colibacille, ont perdu, le premier 10 grammes, et le second 20 grammes. Le chat 4, témoin, est resté stationnaire.

4 avril. Les chats 2, 3, 4, sont bien portants et augmentent progressivement.

Expérience XIX. — 26 mars 1899. Quatre souris, de trois semaines environ, sont séparées de la mère et alimentées au lait stérilisé. Elles reçoivent, en outre, mélangé au lait :

Souris	1.......	6 gr. 75	: bouillon pur (témoin) ;
—	2.......	7 gr.	: colibacille ;
—	3.......	7 gr. 25	: streptocoque ;
—	4.......	7 gr. 50	: colibacille + streptocoque ãã.

Le 30. Souris 4 est trouvée morte après avoir pris à deux reprises approximativement XX gouttes ãã de streptocoque et de colibacille.

Les autres vont bien.

Le 31. La souris 2 meurt après avoir reçu en tout XL gouttes en deux fois (la dernière fois le 28). Elle a maigri de 1 gramme.

4 avril. Les souris 1 et 3 survivent et vont bien.

Mais ce ne sont là que des tentatives. Nos résultats sont loin d'avoir l'importance qu'ont eu ceux de Metchnikoff pour la production du choléra intestinal à l'aide des associations. Avant de conclure, il faut poursuivre les recherches en variant les conditions d'expérience, les espèces animales, les doses des microbes associés.

CHAPITRE IV.

Associations des colibacilles au Bacillus mesentericus et au Proteus.

Le streptocoque n'est pas le seul germe qu'on puisse trouver associé dans l'intestin aux colibacilles. Il en est d'autres, parmi lesquels il faut citer le bacillus mesentericus et le proteus. Le bacillus mesentericus doit particulièrement attirer l'attention, parce que ce microbe, probablement variété du bacillus subtilis, est un saprophyte habituel du lait, que la stérilisation à 100° ne détruit pas ses spores et que, par suite, du lait, même stérilisé avec l'appareil Soxhlet, peut contenir de ces spores et en introduire dans le tube digestif un plus ou moins grand nombre. Cependant il n'est que rarement par lui-même cause des infections gastro-intestinales ; Ardoin (1) en a rapporté une observation et n'en a pas trouvé d'autres exemples dans les auteurs. Aussi doit-on se demander s'il ne joue pas un rôle dans ces infections en s'associant au colibacille.

Pour établir la réalité de cette association, il faut se conformer au plan que nous avons suivi pour l'étude de l'association strepto-colibacillaire. Dans ce but, nous avons fait les expériences suivantes en utilisant certains des colibacilles intestinaux, dont nous avons déjà parlé, et des B. mesentericus isolés du lait, non virulents ou virulents à la dose de 2 cc. en injection sous-cutanée pour le cobaye (en ayant soin de fragmenter le voile).

(1) CH. ARDOIN. *Contrib. à l'ét. de l'infection digestive aiguë chez le jeune enfant*. Th. de Paris, 1897.

Expérience XX. — Le bacillus mesentericus, isolé d'un lait stérilisé au Soxhlet, tue, en deux jours, à la dose de 2 centim. cubes un cobaye de 310 gr. ; il est sans action à 1 centim. cube sur un cobaye de 280 gr.

L'association de 1 centim. cube de ce bacille et de 1 centim. cube du colibacille XXV, non virulent à cette dose, est sans action sur un cobaye de 300 gr.

Expérience XXI. — Le bacillus mesentericus, isolé d'un lait stérilisé au Soxhlet, est sans action à la dose de 2 centim. cubes sur un cobaye de 330 gr.

Le mélange de 2 centim. cubes du bacillus mesentericus et de un demi-centim. cube du colibacille XVII virulent à 1 centim. cube tue, en moins de vingt heures, un cobaye de 330 gr. avec culture pure de colibacilles dans le sang du cœur. Le mélange de 1 centim. cube du bacillus mesentericus et de un demi-centim. cube du colibacille est sans action sur un cobaye de 290 gr.

Expérience XXII. — Le bacillus mesentericus, isolé d'un lait non stérilisé n'est pas virulent à la dose de 2 centim. cubes pour un cobaye de 300 gr.

Il est mélangé, à la dose de 1 centim. cube à un demi-centim. cube du colibacille XVIII virulent à 1 centim. cube, et inoculé à un cobaye de 325 gr. ; celui-ci meurt en trente-six heures, avec des lésions très accentuées et du colibacille pur dans le sang du cœur.

Expérience XXIII. — Le bacillus mesentericus, isolé d'un lait stérilisé au Soxhlet, n'est pas pathogène, à 1 centim. cube, pour un cobaye de 290 gr.

1 centim. cube de ce bacille, mélangé à un demi-centim. cube du colibacille XVIII, tue le cobaye en moins de 18 heures avec colibacilles purs dans le sang du cœur. La même dose du bacille et un quart de centim. cube du colibacille tuent en 48 heures un cobaye de 330 gr.

Dans les quatre expériences précédentes, nous avons étudié quatre échantillons de B. mesentericus associés à trois échantillons de colibacilles. L'association, à des doses non actives pour chacun des deux microbes séparément, a été virulente 3 fois sur 4, avec les mêmes variations de doses que nous avons constatées pour les associations strepto-colibacillaires.

Comme pour les streptocoques, il y-a donc une influence manifeste due à l'association du B. mesentiricus au colibacille. Nous avons borné nos expériences à l'inoculation de mélanges des deux bacilles. Pour compléter cette étude il faudrait poursuivre les recherches, en suivant le même programme que nous avons indiqué pour les associations strepto-colibacillaires. Il est probable que l'on arriverait aux mêmes conclusions. D'ailleurs, dans le sang du cœur de quelques animaux morts du fait de cette association, nous n'avons trouvé que du colibacille à l'état de pureté et pas de B. mesentericus.

Cependant on peut admettre, malgré les résultats de l'expérience que l'association du colibacille et du B. mesentericus joue un rôle moins grand dans la pathogénie des infections gastro-intestinales des jeunes enfants que l'association strepto-colibacillaire. Bien que ce microbe puisse être un hôte de l'intestin normal, nous ne l'avons rencontré en effet que rarement dans les examens de matières fécales. Dans l'observation XXIII, où il existait en faible proportion, il n'était pas virulent à la dose de 1 centim. cube pour le cobaye. Mélangé à cette dose avec 1 centim. cube du colibacille (dose non virulente) il ne tuait pas un cobaye de 250 grammes. Il est cependant intéressant de remarquer que, malgré la quantité de spores qui peut être déglutie, il n'existe guère dans les selles. La symbiose que nous avons notée chez le cobaye pourrait expliquer le phénomène.

Le proteus est également un germe dont l'association doit être étudiée. On le rencontre assez fréquemment dans les matières fécales. On peut le rencontrer dans l'intestin normal. Dans certains cas d'infection on peut le considérer comme agent principal d'une infection digestive (Booker); mais le plus souvent, il ne paraît devoir jouer un rôle qu'à titre de germe associé.

Voici les résultats que nous a donné l'association de proteus et de colibacilles des matières fécales. Dans l'observation XXXII, à côté du colibacille non virulent à 1 centim. cube, existait un proteus

virulent seulement à cette dose; le mélange de un quart de centim. cube de colibacille et de un demi-centim. cube de proteus tuait le cobaye. Dans l'observation XXXIV, l'association de 1 centim. cube de proteus et de un demi-centim. cube du colibacille A (doses inactives) fut sans action sur un cobaye de 320 grammes, de même que le mélange de 1 centim. cube de streptocoque et de 1 centim. cube de proteus pour un cobaye de 310 grammes (1). Dans l'observation XXXV, l'association de 1 centim. cube de proteus et de 1 centim. cube de colibacille fut également inactive pour un cobaye de 315 grammes.

Mais ces faits sont trop peu nombreux pour que nous puissions en tirer une conclusion. Il conviendrait d'étudier cette association protéo-colibacillaire d'une façon plus complète, et de chercher à définir son rôle dans les infections gastro-intestinales. Il est possible qu'elle ait sa place à côté de l'association strepto-colibacillaire dans la pathogénie des infections gastro-intestinales, et principalement des infections subaiguës et chroniques, comme le montrent nos observations. Il faudrait, en outre, faire des groupements plus complexes, et notamment associer les colibacilles, les streptocoques, les proteus; peut-être l'activité de telles associations est-elle plus grande que celle de l'association de deux seuls germes.

(1) La virulence de l'association protéo-streptococcique a été montrée par Doléris et Bourges.

CONCLUSIONS

Les recherches bactériologiques faites dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants ont montré que généralement les microbes, auxquels on peut attribuer un rôle pathogène, ne sont pas spéciaux à ces infections; que ce sont des saprophytes plus ou moins habituels de l'intestin normal. Il importe donc, pour démontrer le rôle des bactéries dans les infections gastro-intestinales, de rechercher un criterium qui permette d'affirmer leur action morbide.

Parmi les microbes de l'intestin, ceux que l'on rencontre constamment sont les colibacilles. On leur a attribué un grand rôle dans la pathogénie des infections gastro-intestinales. Mais les colibacilles isolés dans ces infections ne se différencient en rien par leurs caractères de forme et de culture des colibacilles saprophytes ; aussi a-t-on cherché à établir leur rôle d'après leur abondance et leur virulence. L'abondance a par elle-même peu de valeur ; ces microbes, en effet, prédominent presque toujours à l'état normal sur les autres bactéries, et peuvent même exister, quoique rarement, à l'état de culture pure. La virulence est un caractère également discutable, car il est fréquent, en dehors de tout état infectieux des voies digestives, de constater dans les selles des colibacilles virulents. L'existence simultanée de ces deux caractères, culture pure et virulence, a plus de valeur, puisqu'alors on ne peut invoquer l'action d'autres germes; elle n'est cependant pas absolument pathognomonique. Après la découverte du séro-diagnostic de la fièvre typhoïde, on pouvait espérer trouver le critérium de la nature colibacillaire de ces infections par la

recherche de la réaction agglutinative du sérum des malades vis-à-vis des colibacilles isolés des selles. En étudiant l'agglutination, suivant la méthode des mensurations du pouvoir agglutinatif, nous avons constaté la rareté de cette agglutination au cours des infections gastro-intestinales ; quand elle existe, elle n'est aucunement en rapport avec la virulence des colibacilles isolés des selles, et n'est pas plus marquée que peut l'être l'agglutination normale. On ne peut donc tirer aucune déduction de ce fait pour établir l'existence d'infections intestinales colibacillaires. Les résultats négatifs que nous venons d'exposer ne sont d'ailleurs pas une raison pour refuser tout rôle pathogène aux colibacilles. Il est très vraisemblable que ces microbes saprophytes peuvent à un moment devenir pathogènes, mais, dans tel cas donné, les moyens d'étude actuels ne permettent pas de l'affirmer.

Une autre question se rattachait à l'étude de l'agglutination des colibacilles, celle de l'existence d'une race colibacillaire spéciale aux infections gastro-intestinales aiguës d'été. En infectant expérimentalement des animaux avec des colibacilles virulents isolés dans ces infections, nous avons constaté que le sérum de l'animal en expérience acquiert le pouvoir d'agglutiner son colibacille infectant seul, il n'agglutine pas les autres colibacilles isolés dans les mêmes conditions de temps et de lieu ou les agglutine à un taux bien inférieur. Si au lieu d'employer un sérum d'animal infecté on emploie le sérum d'un animal intoxiqué avec de vieilles cultures filtrées sur bougie, on obtient des résultats de même ordre, toujours à la condition de s'astreindre à des mensurations précises du pouvoir agglutinatif. L'agglutination ne permet donc pas de grouper les colibacilles de ces infections estivales en une race particulière; ces infections, quand elles sont d'origine colibacillaire, restent toujours, jusqu'à nouvel ordre, des infections de hasard. D'ailleurs dans ces infections aiguës, les colibacilles ne sont pas les seuls germes que l'on puisse incriminer, et on a pu les attribuer dans bien des cas à des streptocoques, à des proteus, au bacille pyocyanique, etc. Il est enfin des cas où il est difficile de les considérer comme relevant d'un seul germe.

La variété de la flore microbienne dans ces affections aiguës est grande, en effet, dans la majeure partie des cas. Si l'on considère les infections subaiguës et chroniques, elle devient la règle. Aussi la notion s'impose-t-elle d'infections associées. Le rôle joué par les associations microbiennes dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants peut être multiple : symbyose microbienne, infections mixtes, infections secondaires. Mais comme la même complexité d'espèces microbiennes peut exister dans l'intestin normal et ne causer aucun dommage à l'organisme, il importe de distinguer l'association de la simple coexistence des germes. Aussi faut-il, avant de vouloir faire jouer à ces associations un rôle en clinique et pour en comprendre le mécanisme, établir la réalité d'un rôle pathogène joué par les microbes associés. Dans ce but, nous avons étudié quelques-unes des associations qui peuvent se présenter dans l'intestin et en particulier l'association des streptocoques et des colibacilles, germes que l'on rencontre le plus habituellement. Nous avons montré l'activité fréquente, mais non constante de cette association pour le cobaye, la nécessité du mélange des deux germes, les proportions nécessaires, et précisé le mécanisme de l'infection réalisée, qui est plutôt une colibacillose qu'une strepto-colibacillose. Puis passant à l'examen des cas cliniques, nous avons vu qu'il n'y avait pas dans la constatation d'une association virulente pour le cobaye un critérium permettant d'établir qu'il s'agit d'une infection intestinale par association. Le critérium paraît résider dans les proportions relatives des deux germes dans les matières fécales, sans cependant qu'il y ait dans ces proportions rien de pathognomonique d'un état infectieux, puisqu'on peut constater les mêmes variations à l'état normal, quoique plus rarement. Si bien que les critiques formulées quand il s'agissait d'établir le rôle des colibacilles sont applicables à ces associations. Cependant, de même que nous n'avons pas refusé tout rôle aux colibacilles du fait qu'on ne pouvait établir rigoureusement leur action, de même nous ne devons pas refuser toute action à l'association strepto-colibacillaire, en nous basant sur ce même

motif. Il n'est pas toujours facile d'établir ces critériums du rôle des associations microbiennes, même là où l'expérimentation et la clinique sont d'accord pour en montrer toute l'importance ; témoin pour la diphtérie, l'association du bacille de Lœffler et du streptocoque. Dans les infections gastro-intestinales des jeunes enfants l'association strepto-colibacillaire, dont l'expérimentation nous montre toute la valeur, nous paraît jouer un rôle important, soit à titre d'infection mixte, soit à titre d'infection secondaire, soit enfin à titre de phénomène de symbiose microbienne. Cette symbiose, corroborée par certains examens de l'intestin en ses différents points, joue peut-être un rôle dans la pathogénie de certains faits encore mal expliqués, surtout si l'on tient compte des différences qui peuvent être créées par le terrain, ainsi qu'il résulte de l'expérimentation comparée chez le cobaye et le lapin.

Une association de même ordre que l'association strepto-colibacillaire existe pour le colibacille et le bacillus mesentericus. Peut-être en est-il de même pour l'association du colibacille avec le proteus, le bacille pyocyanique, comme certaines de nos observations tendent à le prouver. En faisant des groupements plus complexes, colibacilles, streptocoques. proteus, bacille pyocyanique, qui peuvent coexister dans le même intestin, on observera peut-être des faits intéressants ; ces associations multiples paraissent surtout devoir jouer un rôle dans les infections chroniques.

TABLE DES MATIÈRES

IMPRIMERIE LEMALE ET Cie, HAVRE